

UNTERSUCHUNGEN ZUM GEWEBESTÄNDIGEN  
FIBRINOLYSESYSTEM EINIGER VOGELSPEZIES:  
PLASMINOGENAKTIVATOREN UND PLASMININHIBITOREN

RÜDIGER KORBEL





Digitized by the Internet Archive  
in 2026



Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Josef Kösters

Untersuchungen zum gewebeständigen Fibrinolyse-System  
einiger Vogelspezies:  
Plasminogenaktivatoren und Plasmininhibitoren

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Rüdiger Korb  
aus  
München

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. J. Kösters

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. J. Wittmann

Tag der Promotion: 28. 2. 1986

Gewidmet Roswitha und meinem Vater

Auf jeden Fall weiß ich mehr von einer Sache,  
wenn ich zwei Meinungen über sie habe.

W. Schnurre



|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Einleitung                                                                                  | 1  |
| 2. Literatur                                                                                   |    |
| 2.1. Plasmatisches Fibrinolysesystem                                                           | 3  |
| 2.1.1. Blutgerinnung                                                                           | 5  |
| 2.1.2. Fibrinolyse                                                                             | 6  |
| 2.2. Plasmatische Fibrinolyseinhibitoren                                                       |    |
| 2.2.1. Chemische Charakteristik                                                                | 10 |
| 2.2.2. Funktion                                                                                | 11 |
| 2.3. Gewebeständiges Fibrinolysesystem                                                         |    |
| 2.3.1. Chemische Charakteristik                                                                | 13 |
| 2.3.2. Lokalisation                                                                            | 14 |
| 2.3.3. Aktivitätsbestimmende Faktoren                                                          | 15 |
| 2.3.4. Funktion                                                                                | 17 |
| 2.3.5. Interaktionen zwischen plasmatischen<br>und gewebeständigen Plasminogenakti-<br>vatoren | 18 |
| 2.3.6. Mechanische und pharmakologische Beein-<br>flussung der fibrinolytischen Aktivität      | 18 |
| 2.3.7. Nachweis der gewebeständigen fibrino-<br>lytischen Aktivität                            | 19 |
| 2.4. Gewebeständige Fibrinolyseinhibitoren                                                     |    |
| 2.4.1. Chemische Charakteristik                                                                | 21 |
| 2.4.2. Lokalisation                                                                            | 21 |
| 2.4.3. Funktion                                                                                | 23 |
| 2.4.4. Pharmakologische Beeinflussung der<br>gewebeständigen Plasmininhibitoren                | 24 |
| 2.4.5. Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren<br>im Gewebe                                        | 25 |
| 3. Zielsetzung                                                                                 | 27 |

#### 4. Eigene Untersuchungen

##### 4.1. Material und Methoden

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.1. Reagentien und Geräte                                | 28 |
| 4.1.1.1. Nachweis von Fibrinolyseaktivatoren                | 28 |
| 4.1.1.2. Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren                | 28 |
| 4.1.2. In Anspruch genommene Vögel                          | 29 |
| 4.1.3. Gewinnung von Gewebematerial                         | 31 |
| 4.1.4. Verwendete Methode - Fibrinolyse-<br>nachweis        | 31 |
| 4.1.4.1. Arbeitsgang                                        | 31 |
| 4.1.4.2. Auswertung                                         | 35 |
| 4.1.4.3. Kontrollen                                         | 37 |
| 4.1.5. Verwendete Methode - Plasmininhibito-<br>rennachweis | 37 |
| 4.1.5.1. Arbeitsgang                                        | 37 |
| 4.1.5.2. Auswertung                                         | 40 |
| 4.1.5.3. Kontrollen                                         | 41 |

#### 5. Ergebnisse

##### 5.1. Fibrinolyse nachweis

|                                         |    |
|-----------------------------------------|----|
| 5.1.1. ACCIPITRIFORMES ( Greifvögel )   |    |
| 5.1.1.1. Buteo buteo ( Mäusebussard )   | 45 |
| 5.1.1.2. Accipiter gentilis ( Habicht ) | 49 |
| 5.1.1.3. Accipiter nisus ( Sperber )    | 50 |
| 5.1.2. FALCONIFORMES ( Falken )         |    |
| Tinnunculus tinnunculus ( Turmfalke )   | 52 |
| 5.1.3. STRIGIFORMES ( Eulen )           |    |
| 5.1.3.1. Strix aluco ( Waldkauz )       | 52 |
| 5.1.3.2. Asio otus ( Waldohreule )      | 53 |
| 5.1.4. APODIFORMES ( Segler )           |    |
| Apus apus ( Mauersegler )               | 56 |

|                 |                                                                                               |    |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1.5.          | Sonstige                                                                                      | 58 |
| 5.1.6.          | Vergleich der fibrinolytischen Aktivität von Lungen-, Venen- und Lebergewebe                  | 63 |
| 5.1.7.          | Vergleich der fibrinolytischen Aktivität von Geweben verschiedener Spezies                    | 64 |
| 5.1.8.          | Fibrinolytische Aktivität in Abhängigkeit vom Vorbericht der untersuchten Tiere               | 65 |
| 5.2.            | Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren                                                           | 68 |
| 6. Diskussion   |                                                                                               |    |
| 6.1. Methodik   |                                                                                               |    |
| 6.1.1.          | Methode - Fibrinolysenachweis                                                                 | 70 |
| 6.1.1.1.        | Verwendung eines heterologen Systemes zum Nachweis von gewebeständigen Plasminogenaktivatoren | 70 |
| 6.1.1.2.        | Auswahl der zu untersuchenden Gewebe                                                          | 72 |
| 6.1.1.3.        | Wahl der Inkubationstemperatur                                                                | 73 |
| 6.1.1.4.        | Gewinnung von Ergebnissen                                                                     | 74 |
| 6.1.2.          | Methode - Fibrinolyseinhibitorennachweis                                                      | 76 |
| 6.2. Ergebnisse |                                                                                               |    |
| 6.2.1.          | Fibrinolysenachweis                                                                           | 77 |
| 6.2.2.          | Fibrinolyseinhibitorennachweis                                                                | 80 |
| 6.3.            | Weiterführende Betrachtungen                                                                  | 81 |

# INHALTSVERZEICHNIS

IV

Seite

|     |                      |     |
|-----|----------------------|-----|
| 7.  | Zusammenfassung      | 85  |
| 8.  | Summary              | 86  |
| 9.  | Resumen              | 87  |
| 10. | Literaturverzeichnis | 89  |
|     | Lebenslauf           | 116 |

## 1. EINLEITUNG

Das fibrinolytische System, dessen Aktivitätsniveau im wesentlichen durch die funktionellen Antagonisten Plasminogenaktivator und Plasmininhibitor bestimmt wird, besitzt zentrale Bedeutung bei der Entstehung und Auflösung fibrinhaltigen Materials im Organismus von Mensch und Tier.

Man unterscheidet zwischen plasmaständigem und gewebeständigem Fibrinolysesystem. Aufgabe des fibrinolytischen Systemes ist es, Fibringerinnsel, die sich auch unter physiologischen Bedingungen ständig an den Blutgefäßwänden ablagern, zu lysieren, und damit eine reibungslose Zirkulation zu gewährleisten. Außerhalb der Gefäße werden beispielsweise Fibringerinnsel im Verlauf von Wundheilungsgeschehen abgebaut.

Im Gegensatz zum Menschen und anderen Säugern, bei denen das fibrinolytische System weitestgehend erforscht ist, ist über das gewebeständige Fibrinolysesystem der Vögel nichts bekannt.

Auch für den möglichen Einsatz von Gewebeklebern an Vögeln zur Behandlung von großflächigen Hautdefekten oder Sohlenballenabszessen beispielsweise, ist die

Frage nach gewebeständigen fibrinolytischen Aktivitäten im Gewebe von Vögeln von Wichtigkeit, da diese Gewebekleber chemisch gesehen nichts anderes als Fibringerinnsel darstellen.

## 2. LITERATUR

### 2.1. Plasmatisches Fibrinolysesystem

Der Organismus von Vögeln und Säugetieren besitzt ein enzymatisches System, das dazu befähigt ist, Blutgerinnsel ( i. e. Fibrinablagerungen ) aufzulösen.

Dieses System wird als "Fibrinolytisches System" bezeichnet.

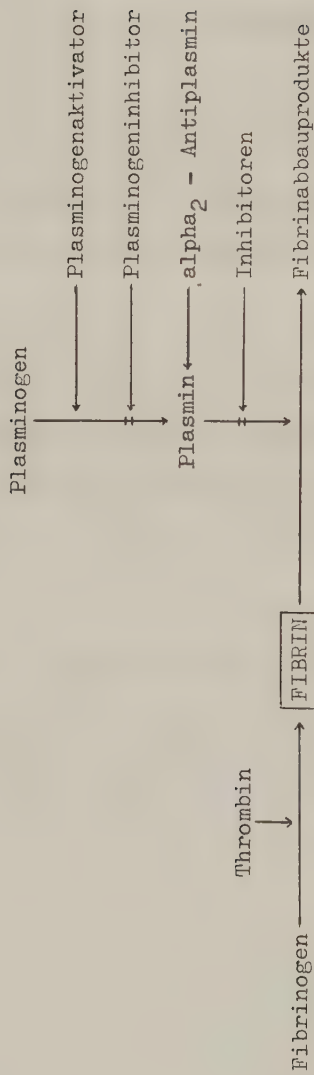
Das System beinhaltet ein Proenzym, Plasminogen, das durch eine verschiedene Anzahl von Plasminogen - Aktivatoren zum aktiven Enzym Plasmin transformiert werden kann. Aktives Plasmin wiederum wird hauptsächlich durch  $\alpha_2$  - Antiplasmin inaktiviert ( LIJNEN und COLLEN 1983 ).

In der Reaktionsabfolge von Blutgerinnung mit dem Vorgang der Fibrinablagerung und der sich daran anschließenden Fibrinolyse, stellt Fibrin das zentrale Bindeglied dar ( ASTRUP 1956 (a), 1959, 1975 ).

( siehe Tab. 1 )

# BLUTGERINNUNG

## FIBRINOLYSE



Tab. 1 : Einfaches Schema von Blutgerinnung und Fibrinolyse mit

Fibrin als zentralem Bindeglied ( nach KOLLER, 1969;

WITT, 1975; LIJNEN und COLLEN, 1983 )

### 2.1.1. Blutgerinnung

Den entscheidenden Schritt der von SCHMIDT et al. Ende des 19. Jahrhunderts entwickelten Theorie der Blutgerinnung ( KOLLER 1969 ) stellt die Transformation des löslichen Proteins Fibrinogen in das unlösliche Protein Fibrin und die sich daran anschließende Polymerisation der Fibrinmonomere dar.

Beim Vogel scheint dieser Schritt der Blutgerinnung noch wenig erforscht ( WARTELLE 1957; BIGLAND 1964; ARCHER 1971; NIRMALAN 1971; STOPFORTH 1976; HODGES 1977; BELLEVILLE 1982 ).

Im besser untersuchten Blutgerinnungssystem des Menschen stellt sich der Vorgang der Bildung von Fibrin aus Fibrinogen folgendermaßen dar:

Die Aktivierung eines plasmatischen, sogenannten "Prothrombin - Komplexes" durch verschiedene Faktoren des Blutgerinnungssystems führt, über eine Reihe von Zwischenschritten, zur Bildung des enzymatisch aktiven Thrombins. Dieses spaltet von dem Plasmaprotein Fibrinogen durch Proteolyse zwei Peptidketten, die als Peptid A und Peptid B bezeichnet werden, ab, wodurch zunächst Fibrinmonomere entstehen ( WITT 1975; LORAND 1975 ).

In der darauffolgenden eigentlichen Aggregat- oder

Gerinnungsbildung entstehen zunächst Fibrinpolymere, die noch in 4 - 8 molarer Harnstofflösung oder 1 - 2% iger Monochloressigsäure löslich sind ( LAKI und LORAND 1948 ) und durch Einwirkung von Faktor X zu auch in Harnstoff unlöslichen Fibringerinnenseln vernetzt werden ( LORAND und JAKOBSEN 1958 ).

### 2.1.2. Fibrinolyse

Auch unter physiologischen Umständen lagert sich ständig Fibrin in den Gefäßen ab. Um eine ordnungsgemäße Blutzirkulation zu gewährleisten, ist es notwendig, daß dieses Fibrin wieder abgebaut wird, Diese Aufgabe fällt dem fibrinolytischen System zu ( PANDOLFI et al. 1969 ).

Das plasmatische fibrinolytische System der Vögel wurde bereits verschiedentlich untersucht. Gelang es zunächst nicht, spontane Fibrinolyse des Plasmas bei Hühnern ( NIEWIAROWSKI und LATALLO 1959; HAWKEY 1970 ), Enten und Truthühnern ( NIEWIAROWSKI und LATALLO 1959 ) nachzuweisen, so belegen neuere Untersuchungen, daß das Plasma verschiedener Vogelarten sehr wohl zu einer Fibrinolyse imstande ist ( ALLEN 1972; AHMAD et al. 1980 ).

Da jedoch diese Untersuchungen nur die Frage nach einer plasmaständigen Fibrinolyse bei Vögeln, jedoch die Wirkungsmechanismen allenfalls in Bruchstücken klären

konnten ( BELLEVILLE et al. 1982 ), empfiehlt sich hier ein Blick auf das wesentlich besser erforschte Fibrinolyse-System des Menschen.

Die Fibrinolyse läuft hier folgendermaßen ab:

Die Aktivierung des Proenzym Plasminogen zum fibrinolytisch aktiven Plasmin kann beim Säuger über drei Hauptreaktionswege ablaufen ( LIJNEN und COLLEN 1983 ):

1. Das "Intrinsic - System" mit im Blut zirkulierenden inaktiven Vorstufen der Aktivatoren
2. Das "Extrinsic - System" mit aus dem Gewebe stammenden Aktivatoren
3. Das "Exogene System" mit aus der Umwelt in den Organismus gelangenden Aktivatoren

Beim aviären Blutgerinnungssystem stellt das "Extrinsic - System" den Hauptreaktionsweg dar ( ARCHER 1971 ). Ob dies auch beim Fibrinolyse-System der Vögel der Fall ist, ist ungeklärt ( STURKIE et al. 1976; HODGES 1977; BELLEVILLE 1982 ).

Plasminogen stellt ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 90 000 Dalton dar ( MÜLLERTZ 1978 (b) ). Unter Einwirkung der Aktivatoren kommt es durch Bildung von Arginin - Valin - Brücken zur Bildung der aktiven Protease Plasmin, die aus einer schweren A - Kette

und einer leichten B - Kette besteht ( KOLLER 1969; SCHWICK und HEIMBURGER 1969 ). Die A - Kette ist Träger einer sogenannten "Lysin - Bindungsstelle", die für die Interaktion zwischen Plasmin und Fibrin von Wichtigkeit ist ( LIJNEN und COLLEN 1983 ).

Plasminogenaktivatoren können sowohl physiologischer als auch unphysiologischer Natur sein. Physiologische Aktivatoren sind die Urokinase im Harn des Menschen ( ASTRUP 1956 (b) und 1966 ) oder eingeschwemmter gewebeständiger Plasminogenaktivator ( SCHWICK und HEIMBURGER 1969 ). Der Blutaktivator repräsentiert einen vaskulären Plasminogenaktivator, der chemisch gleich oder identisch mit dem Gewebeaktivator, jedoch unterschiedlich von der Urokinase ist ( LIJNEN und COLLEN 1983 ).

Die genaue Herkunft des plasmatischen Plasminogenaktivators ist noch nicht geklärt ( PANDOLFI 1970 ). Obwohl einige Autoren annehmen, daß der Plasminogenaktivator hauptsächlich aus dem venösen Endothelium ( MESSER et al. 1962; CHAKRABARTI et al. 1963; WARREN 1964 ) bzw. den Vasa vasorum ( PANDOLFI et al. 1967; PANDOLFI 1970 ) stammt, sind auch andere Organe, wie die Nieren ( MENON und DEWAR 1967; MENON et al. 1968 ), Herz ( MENON und DEWAR 1970 ), Uterus ( MENON und DEWAR 1970; MENON et al. 1970; MENON et al. 1970 (a) ) und Gehirn ( MENON et al. 1970 (b) ) an der Produktion plasmaständiger Plasminogen-

aktivatoren beteiligt, der dem Blut beim Durchfluß dieser Organe beigefügt wird.

Unphysiologische Aktivatoren stellen beispielsweise das Stoffwechselprodukt der  $\beta$  - hämolysierenden Streptokokken Streptokinase ( WITT 1975 ), Trypsin und Chloroform ( ASTRUP 1956 (b) ) dar.

Das gebildete Plasmin greift die Lysyl - Lysin- und Lysyl - Arginin - Bindungen von Fibrinogen und Fibrin, außerdem die Blutfaktoren VIII und V an ( BANG 1971 ) und baut sie zu niedermolekularen Spaltprodukten ab ( WITT 1975 ). Sowohl Plasminogen ( KOLLER 1969; BANG 1971 ) als auch Plasmin ( WITT 1975 ) besitzen eine ausgeprägte Affinität zu Fibrin.

Erhöhte fibrinolytische Aktivitäten im Blut finden sich primär bedingt durch Aktivatoreinschwemmung aus dem Gewebe ( BANG 1971 ), bei Gefäßverschluß durch Thrombose ( SHAPER et al. 1972 ), und sekundär bedingt ( im Rahmen einer Verbrauchskoagulopathie ) durch ständige Fibrinablagerung und nachfolgender, dadurch ausgelöster Fibrinolyse ( LASCH et al. 1967 ). Gefolgt wird diese gesteigerte plasmatische Fibrinolyseaktivität von einer erniedrigten Plasminogenkonzentration, vermehrten Fibrinabbauprodukten, sowie einer Abnahme der Konzentration von Proteaseinhibitoren ( WITT 1975; LASCH et al. 1967 ).

Auch Sympathiko- und Parasympathikomimetika ( BANG 1971; HOLEMANS und SILVER 1969; NILSSON und PANDOLFI 1970; MARKWARDT und KLOCKING 1976 ), sowie Testosteron ( FEARNLEY 1964 ) können die fibrinolytische Aktivität des Plasmas steigern.

## 2.2. Plasmatische Fibrinolyseinhibitoren

### 2.2.1. Chemische Charakteristik

Alle Proteaseinhibitoren sind Glykoproteine. Im menschlichen Plasma finden sich Konzentrationen bis zu 700 mg/100 ml. Das bedeutet, daß nahezu 10% der Plasmaproteine Träger von inhibitorischen Eigenschaften sind ( HEIMBURGER 1975 ).

Die plasmatischen Fibrinolyseinhibitoren können folgendermaßen eingeteilt werden ( MC NICOL und DOUGLAS 1964 ):

#### 1. Inhibitoren der Plasminogenaktivierung:

- Plasmainhibitoren
- Aminosäureinhibitoren
- Pankreas- und Parotidea - Trypsin - Inhibitoren

#### 2. Plasmininhibitoren:

- Blutplättchen - Antiplasmin
- andere Plasmininhibitoren wie Schwermetalle, Soja-

bohnen - Trypsin - Inhibitor und Trasylol, die sehr unterschiedliche Wirkung haben

- Plasma - Antiplasmin

Interessieren sollen an dieser Stelle nur die Plasma - Antiplasmin.

Die inhibitorische Wirkung dieser Proteaseinhibitoren kommt durch die Bildung eines enzymatisch inaktiven Komplexes mit den Proteinasen ( HEIMBURGER 1974; HEIMBURGER 1975 ) und nachfolgender Spaltung der Lysin - Bindungsstellen zustande ( CHRISTENSEN und CLEMMENSEN 1977; WIMAN und COLLEN 1978; WIMAN et al. 1978; WIMAN et al. 1979 ). Auf diesem Wege wird die fibrinolytisch aktive Protease Plasmin durch die folgenden Proteaseinhibitoren inaktiviert:  $\alpha_1$  - Antitrypsin, Antithrombin III, C 1 - Inaktivator ( COLLEN 1976; MONROI und AOKI 1976; MÜLLERTZ und CLEMMENSEN 1976 ), und  $\alpha_2$  - Antiplasmin ( MÜLLERTZ 1978 (a) ), einem einkettigen Glykoprotein, Molekulargewicht 70 000 Dalton, das im Plasma den physiologischen Hauptinhibitor darstellt.

### 2.2.2. Funktion

Proteaseinhibitoren üben regelnde und den Organismus gegen überschießende Reaktionen von Proteasen schützen-

de Funktion aus.

So finden sich gegen alle, wichtige biologische Prozesse katalysierende Proteasen im Plasma Proteaseinhibitoren: gegen Proteasen der Blutgerinnung, der Fibrinolyse, der Immunabwehr via Komplement, der pankreatischen Hydrolyse, der Infektabwehr durch proteolytische Enzyme von Leukozyten. Sogar auf lysosomale Enzyme in den Zellen üben Proteaseinhibitoren Einfluß aus ( HEIMBURGER 1974; STEINBUCH und AUDRAN 1974; HEIMBURGER 1975 ).

Schützende Funktionen üben Fibrinolyseinhibitoren auch in Organen, die anfällig gegen Proteolyse und Fibrinolyse sind ( z. B. Lunge, Mukosa von Verdauungs- und Respirationstrakt ) aus. Hier begrenzen sie den Wirkungsbereich von Plasmin auf Fibrin ( HEIMBURGER 1974; HARMS et al. 1975 ).

Die Wirkung der plasmatischen Plasmininhibitoren schließt auch den Extravasalraum ein, in den beispielsweise  $\alpha_1$  - Antitrypsin und im geringeren Maße auch  $\alpha_2$  - Antiplasmin gelangen können ( STEINBUCH und AUDRAN 1974 ).

Nach HEALY und PARKER ( 1966 ) soll  $\alpha_2$  - Antiplasmin wachstumsfördernden Einfluß auf Mäuseembryozellen ausüben, die lokale Applikation von Proteaseinhibitoren soll

beschleunigte Narbenbildung bewirken ( KWAAN und ASTRUP 1969 ).

## 2.3. Gewebeständiges Fibrinolysesystem

Die gewebeständige Fibrinolyse wird erstmals 1915 von FLEISHER und LOEB beschrieben. Neben einer Reihe von Säugetiergeweben untersuchen sie auch Gewebe von Hühnern. Es gelingt Ihnen jedoch nicht, eine spontane fibrinolytische Aktivität in Organen des Huhnes nachzuweisen.

Auch neuere Erkenntnisse der gewebeständigen Fibrinolyse beziehen sich nur auf Säugetiergewebe, sodaß im folgenden auf die Verhältnisse, die man beim Säugetier findet, verwiesen sei.

### 2.3.1. Chemische Charakteristik

Über die chemische Charakteristik der gewebeständigen Fibrinolyseaktivatoren ist nur wenig bekannt. Plasminogenaktivatoren sind hochspezifische Serinproteasen, die das zirkulierende Plasminogen in Plasmin, eine aktive fibrinolytische Protease umwandeln ( CHRISTMAN et al. 1977 ).

Man unterscheidet zwischen Gewebe - Plasminogen - Akti-

vatoren, die beide immunologisch und funktionell identisch sind ( RIJKEN et al. 1980 ). Beide haben eine hohe Affinität zu Fibrin ( BLIX 1962; MC NICOL und DOUGLAS 1976 ). HIJIKATA et al. ( 1974 ) geben das Molekulargewicht mit 45 000, KOK und ASTRUP ( 1969 ) mit 60 000 Dalton an. RIJKEN ( 1981 ) beschreibt einen im humanen Melanomzellen, WALLÉN et al. ( 1981 ) einen im menschlichen Uterus synthetisierten Plasminogenaktivator, der ein Molekulargewicht von 70 000 Dalton hat und aus einer Polypeptidkette besteht. Ein "Plasminogen - Activator - Releasing - Hormon" ( PARH ) soll für seine Ausschüttung verantwortlich sein ( CASH 1978 ).

Nach MATTSON et al. ( 1981 ) ist die Aktivierung von Plasminogen jedoch auch vom Vorhandensein von Fibrin abhängig, da ansonsten keine Aktivierung stattfindet.

### 2.3.2. Lokalisation

Die Lokalisation des Plasminogenaktivators in den zellulären Lysosomen gilt als gesichert ( LACK und ALI 1964; ALI und LACK 1965; SUGIYAMA 1968; PANDOLFI 1975 ).

Ihrer Funktion entsprechend ( s. u. ) konnten Aktivitäten des gewebeständigen Plasminogenaktivators v. a. in oberflächendeckenden Zellen folgender Gewebe gefunden werden:

1. Venen- und Arterienendothel ( COCCHERI und ASTRUP 1961; TODD 1964; BENZER et al. 1966; ISACSON und NILSSON

- 1972; LAUG et al. 1980; ZEUMER 1985 )
2. Kapillaren ( KWAAN und ASTRUP 1967; ASTEDT und PANDOLFI 1971 )
  3. Epithel von Eileiter und Schlemmschen Kanal ( PANDLOFI 1975 )
  4. Uterusepithel ( ASTRUP und ALBRECHTSEN 1957 ) und Vaginalepithel ( CONSTANTINI et al. 1973 )
  5. Epithel des Urogenitaltraktes ( MYHRE - JENSEN 1971; TYMPANIDIS und ASTRUP 1971; SPERNOL et al. 1985 )
  6. Peritoneum, Pleura, Pericard, Herzmuskel ( MYHRE - JENSEN et al. 1969; WALLÉN 1978 )
  7. Granulosa- und Thekazellen des Rattenovars ( CAMPARY und STRICKLAND 1985 )
  8. Synovialis ( CAUGHEY und HIGHTON 1967; MYHRE - JENSEN et al. 1969; PANDOLFI 1972 )
  9. Melanomzellen ( RIJKEN und COLLEN 1981 )
  10. Affennierenzellkulturen ( BARNETT und BARON 1959 )
  11. Mucosa des Respirationstraktes ( YUKIYOSHI et al. 1985 )
  12. Gewebekulturen von Endothelzellen verschiedener Gefäße ( LAUG 1981; QURESHI et al. 1985 ) und Hepatozyten ( LEVIN und LOSKUTOFF 1982 )

### 2.3.3. Aktivitätsbestimmende Faktoren

Bestimmt wird die Aktivität der gewebeständigen Plasminogenaktivatoren durch folgende Faktoren:

### 1. Organspezifität

Verschiedene Organe zeigen unterschiedlich hohe Plasminogenaktivator - Aktivitäten ( FLEISHER und LOEB 1915; ALBRECHTSEN 1957 (a) ). Dabei ist die häufige Proportionalität zwischen Vaskularisationsgrad und Höhe der Plasminogenaktivator - Aktivität auffällig ( PANDOLFI et al. 1962; KWAAN und ASTRUP 1963; ASTRUP 1966 ). Unterschiedliche Aktivitäten finden sich in Venen und Arterien ( BENZER et al. 1966; TODD 1959 ), die abhängig von der unterschiedlichen Lokalisation im Organismus unterschiedlich hohe Aktivitäten an Plasminogenaktivator enthalten ( COCCHERI und ASTRUP 1961; KWAAN und ASTRUP 1962; NILSSON 1969; BÜTTNER 1972; NILSSON und PANDOLFI 1970; RISBERG 1975 ).

### 2. Speziesbedingte Unterschiede

Hierbei wurden bei verschiedenen Säugetierspezies unterschiedliche Plasminogenaktivator - Aktivitäten am Gefäßsystem ( ASTRUP und BULUK 1963; KWAAN und ASTRUP 1967 ) und an der Lunge ( ASTRUP et al. 1970 ) nachgewiesen.

### 3. Ontogenetisch bedingte Unterschiede

Fetale Meerschweinchenlungen zeigten einen stetigen Aktivitätsanstieg während der Trächtigkeit, mit einem

praenatal sprunghaften Anstieg ( AMBRUS et al. 1965 ).

#### 2.3.4. Funktion

Innerhalb der blutführenden Gefäße besteht die Aufgabe der gewebeständigen Plasminogenaktivatoren ähnlich der der plasmaständigen Plasminogenaktivatoren darin, über Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin sich an den Gefäßwänden ablagernde Fibringerinnsel zu lysieren, um eine ständige, ungestörte Zirkulation zu gewährleisten ( PANDOLFI 1975 ), thrombosierte Gefäße zu rekanalisieren ( KWAAN 1969; NILSSON und PANDOLFI 1970; ZEUMER 1985; WIMAN et al. 1985 ) und im Bereich der Mikrozirkulation bei hyperkoagulolabilen Zuständen Fibrinablagerungen zu verhindern ( KOWALSKI 1963; GOODNIGHT 1975 ).

Die Durchgängigkeit kleinlumiger Ausführungsgänge wird ebenfalls durch gewebeständige fibrinolytische Aktivitäten gewährleistet ( PANDOLFI 1969; PANDOLFI 1975 )

Bei den genannten Vorgängen ist das Ausmaß der Aktivitätssteigerung von Plasminogen durch den gewebeständigen Plasminogenaktivator insofern von der Fibrinmenge abhängig, als Fibrin die Affinität von Plasminogen für fibrin gebundenen gewebeständigen Plasminogenaktivator steigert und nicht etwa die katalytische Effizienz des Enzyms steigert ( MÜLLERTZ 1978 (b); TYTGAT 1971; HOY-

LEARTS et al. 1982; KRUIHOF und BACHMANN 1982 ).

Einen günstigen Einfluß auf organisierende Wundheilungsvorgänge ( KWAAN und ASTRUP 1964; BLÜMEL 1969; PETERSON et al. 1969 ) z. B. die Myocardinfarktorganisation ( FISHER et al. 1959; DOUGLAS und OGSTON 1972 ) üben die Plasminogenaktivatoren ebenfalls aus.

#### 2.3.5. Interaktionen zwischen plasmatischen und gewebeständigen Plasminogenaktivatoren

Nach venöser Stase ( NILSSON und PANDOLFI 1970 ) und arterieller Ischämie ( KWAAN und MC FADZEAN 1956 ), sowie unter Einfluß verschiedener vasoaktiver Substanzen ( KRUIHOF und BACHMANN 1982 ) finden sich im Plasma, bedingt durch die Aktivatoreinschwemmung aus dem Gewebe, erhöhte Fibrinolyseaktivitäten.

ISAACSON et al. ( 1972 ) fanden aufgrund idiopathischer Venenthrombosen eine verminderte fibrinolytische Aktivität im Plasma, die sie auf eine gestörte Freisetzung und/oder verringerte Produktion von gewebeständigem Plasminogenaktivator zurückführten.

#### 2.3.6. Mechanische und pharmakologische Beeinflussung der fibrinolytischen Aktivität

CONSTANTINI et al. ( 1973 ) fanden in der Venenintima im Bereich von Ligaturstellen erhöhte endotheliale Lysis und

sahen dies als Beweis für die lokale Aktivierung von Plasminogenaktivatoren durch eine mechanische Läsion an.

Nach 14 tägiger Cortikosteroidapplikation fanden ARNOLD ( 1981 ) in verschiedenen Geweben des Auges, BLASINI und BLÜMEL ( 1977 ) in der Lunge von Albinoratten eine Herabsetzung der fibrinolytischen Aktivität. LAUG ( 1983 ) beschreibt die Inhibierung von gewebeständiger Plasminogenaktivator - Produktion durch Endothelzellen nach Applikation von Glukokortikoiden.

### 2.3.7. Nachweis der gewebeständigen fibrinolytischen Aktivität

Gewebeständige Fibrinolyseaktivatoren können mittels der Fibrinplattenmethode nach ASTRUP und ALBRECHTSEN ( ASTRUP und MÜLLERTZ 1952; ASTRUP und ALBRECHTSEN 1957; ALBRECHTSEN 1957 (a); ASTRUP und BULUK 1963 ) quantitativ, und durch die TODD'sche Fibrinolyseautographie ( TODD 1964 ) histotopographisch nachgewiesen werden.

Der Nachweis der gewebeständigen Plasminogenaktivatoren mittels der Fibrinplattenmethode nach ASTRUP und ALBRECHTSEN erfolgt im Prinzip dadurch, daß das zu untersuchende Gewebe mit Kaliumthiocyanat extrahiert wird, das Sediment durch Zentrifugieren entfernt und die aktive Substanz im Überstand mittels Salzsäure ausgefällt wird.

Das Präzipitat wird in Kaliumthiocyanat wieder gelöst

und die Konzentration an Plasminogenaktivatoren über die Fibrinplattenmethode nach ASTRUP und MÜLLERTZ ( 1952 ) bestimmt, wobei der Gehalt an Plasminogen-aktivatoren zu einer Lyse der Fibrinplatten führt.

Die modernsten Nachweisverfahren stellen das Enzym - Immunoassay - Verfahren nach RIJKEN et al. ( 1984 ) dar, das gewebeständige Plasminogenaktivatoren und -inhibitoren gleichermaßen erfaßt, und das Bioimmunassay ( BIA ) Verfahren nach MAHMOUD et al. ( 1985 ) dar. Bei letzterem werden der gewebeständige Plasminogenaktivator, bzw. der -inhibitor an ein immobilisiertes IgG gebunden. Dieser Komplex ist befähigt, das zugegebene Substrat, Glutaminsäure - Plasminogen, zu aktivieren, bzw. die Aktivierung zur aktiven Protease Plasmin zu verhindern. Plasmin reagiert mit einer chromogenen Substanz, sodaß das Ergebnis dieses Nachweises als Farbumschlag angezeigt wird.

Die TODD'sche Fibrinolyseautographie wird in dieser Arbeit zum Nachweis gewebeständiger Fibrinolyseaktivatoren benutzt. Dieses Verfahren wird im Kapitel "Methodik" ausführlich erläutert.

## 2.4. Gewebeständige Fibrinolyseinhibitoren

### 2.4.1. Chemische Charakteristik

Den am besten erforschten Proteaseinhibitor stellt Aprotinin dar, das aus einer Kette von 58 Aminosäuren besteht und ein Molekulargewicht von etwa 6500 Dalton besitzt ( HABERLAND und MATIS 1967; WERLE et al. 1967; WERLE 1968; WERLE 1969 (a); WERLE 1969 (b) ).

Aprotinin, das in der Lunge von Rindern gefunden wurde ( ASTRUP 1952; WERLE 1969 (a) ) und aus dieser isoliert werden kann ( WERLE et al. 1967 ), hat, da es ein breites Wirkungsspektrum besitzt - es hemmt neben Plasmin auch einige Blutgerinnungsfaktoren, Trypsin und Chymotrypsin ( HABERLAND und MATIS 1967; WERLE et al. 1967; WERLE 1968; WERLE 1969 (a); WERLE 1969 (b) ) - bereits seit einiger Zeit Eingang in die klinische Verwendung gefunden. Als Beispiel sei hier nur die Fibrinklebung angesprochen ( SCHEELE 1984 ).

Die chemische Charakteristik anderer Proteaseinhibitoren ist nur sehr wenig erforscht ( WERLE et al. 1968; AMBRUS et al. 1971 ).

### 2.4.2. Lokalisation

1952 fand ASTRUP den Plasmininhibitor Aprotinin in der Lunge des Rindes, in der interessanterweise gleichzeitig

ein Plasminogenaktivator fehlt ( ASTRUP 1952 ). Jedoch wird der Plasmininhibitor auch in der Leber, Parotis und Pankreas gefunden, nicht jedoch in den von diesen Organen sezernierten Sekreten ( WERLE et al. 1967; WERLE et al. 1968 ). Lungen von Rinderfeten besitzen noch keinen Plasmininhibitor ( ASTRUP 1952; ASTRUP et al. 1968 ).

Im Gegensatz zum Rind konnte Aprotinin in keinem anderen untersuchten Säugetier gefunden werden ( ASTRUP und ALBRECHTSEN 1957; ALBRECHTSEN 1957; ASTRUP et al. 1970 ).

Als Lokalisationsorte von Plasmininhibitoren werden außerdem die glatte Muskulatur von Arterien und Venen des Menschen ( NOORDHOEK HEGT und BRACKMAN 1974 (a), (b), 1975; NOORDHOEK HEGT 1975 ) und die Lunge der Ratte ( TAGNON und PALADE 1950 ) beschrieben.

Ein anderer Inhibitor, der bereits die Aktivierung der enzymatisch inaktiven Vorstufe Plasminogen verhindert, wurde von AMBRUS et al. ( 1971 ) in der Lunge, Leber, Niere, Nebenniere und, wenn auch in geringerer Konzentration, in Haut und quergestreifter Muskulatur von Affen gefunden.

Ein die Aktivität von Trypsin hemmender Inhibitor, der sich je nach Spezies und Gewebe in unterschiedlich hoher Konzentration findet, wurde von WERLE et al. ( 1968 ) beschrieben.

Gewebekulturen, wie beispielsweise die von fetalen und

adulten menschlichen Lungen, sind ebenfalls zu einer Synthese von Fibrinolyseinhibitoren fähig ( BERNIK und KWAAN 1969; KWAAN 1973 ).

Fibrinolyseinhibitoren findet man außerdem im Urin ( ASTRUP 1968 (a) ), Amnionflüssigkeit ( AZNAR et al. 1976 ), sowie Bronchial- und Nasensekret ( HOCHSTRASSER et al. 1972; REICHERT et al. 1971 ) des Menschen.

#### 2.4.3. Funktion

Aufgabe der Fibrinolyseinhibitoren ist es, den Organismus vor Schäden, die eine unkontrollierte Fibrinolyse nach sich zieht, zu schützen ( ASTRUP 1956 (a); KWAAN 1973 ).

Deutlich wird die Bedeutung dieser Schutzfunktion bei hereditärem  $\alpha_1$  - Antitrypsinmangel. Durch den Mangel an Proteaseinhibitor kommt es zur Selbstverdauung von Lungengewebe und zum Lungenemphysem ( HABERLAND und MATIS 1967; LIEBERMANN und GAWAD 1971; STEINBUCH und AUDRAN 1974; HOCHSTRASSER et al. 1974 ). So sehen auch NOORDHOEK HEGT ( 1975 ) und LAUG ( 1985 ) das aktivatorreiche Gefäßendothel und die inhibitorreiche Muskularis als sich gegenseitig kontrollierende Antagonisten.

Eine pathologische Bedeutung kommt den Fibrinolyseinhibitoren bei der sogenannten "Brisket Disease" zu, die v. a.

beim Rind auftritt. Hierbei kommt es neben einem Pulmonalarterienhochdruck zu einer Fibrose des Interstitiums der Lunge. ASTRUP führt dies auf die Anwesenheit großer Mengen von Plasmininhibitoren und die als Folge nicht ausreichende Fibrinauflösung zurück ( ASTRUP 1952, 1969 (a) ).

Auch bei einem Krankheitskomplex Neugeborener, dem sogenannten "Atemnotsyndrom", spielen Fibrinolyseinhibitoren eine erhebliche Rolle. Das Auftreten fibrinhaltiger, pulmonaler hyaliner Membranen wird von LIEBERMANN ( 1960 ) und AMBRUS ( 1966 ) als Ausdruck einer Konzentrationserhöhung gewebeständiger Fibrinolyseinhibitoren angesehen, die verhindern, daß ein Abbau fibrinhaltigen Materials erfolgen kann.

#### 2.4.4. Pharmakologische Beeinflussung der Plasmininhibitoren

Applikation vasoaktiver Substanzen ruft eine erhöhte Plasmakonzentration von Inhibitoren gegen Plasminogenaktivatoren hervor ( KWAAN 1973 ).

Testosteron erhöht den Trypsininhibitorspiegel in den Vesiculae seminales kastrierter Mäuse ( WERLE et. al. 1968 ).

#### 2.4.4. Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren im Gewebe

Der Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren im Gewebe erfolgt über ihre Eigenschaft, die Lyse von Fibrin zu verzögern bzw. zu verhindern.

Der quantitative Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren kann über die Fibrinplattenmethode nach ASTRUP et al. ( 1970 ) erfolgen. Maßgebend ist die Stärke der Lysis einer Fibrinplatte nach Aufbringen einer fibrinolytisch aktiven Substanz mit bzw. ohne den Zusatz einer auf Inhibitoren zu untersuchenden Gewebeprobe. Unterschiedliche Lysegrade geben den Gehalt an Fibrinolyseinhibitoren wieder.

Vom zu untersuchenden Gewebe wird entweder ein Homogenat bzw. Zellfraktionen verwendet, die keiner chemischen Bearbeitung unterliegen ( TAGNON und PALADE 1950; ASTRUP 1952; BENZER et al. 1966; NISHIOKA und RYAN 1971 ) oder der Inhibitor wird selbst isoliert ( ASTRUP et al. 1970 ). Die Isolierung erfolgt durch Extraktion mittels 2 molarer Kaliumthiocyanatlösung ( ASTRUP und ALBRECHTSEN 1957; ASTRUP et al. 1970 ) und anschließender Fällung mit 1 molarer Salzsäure, oder durch Ausfällung mit 3% iger Perchlorsäure aus dem Überstand des zentrifugierten Homogenats ( WERLE et al. 1967 ).

BENZER et al. ( 1966 ) beschreiben als Nachweisver-

fahren für gewebeständige Fibrinolyseinhibitoren die Veränderung eines Thrombelastogramms ( TEG ) nach Zusatz von Gewebshomogenat.

TAGNON und PALADE ( 1950 ) weisen die Anwesenheit von Fibrinolyseinhibitoren durch die Veränderung der Lysezeit eines Fibringerinnsels nach Zugabe von Plasminogen, Plasminogenaktivatoren und Gewebshomogenat nach.

Die hier angeführten funktionellen Nachweismethoden sind jedoch alle mit dem Nachteil behaftet, keine Unterscheidung zwischen Plasminogenaktivator - Inhibitor und Plasmininhibitor zuzulassen, da der Nachweis von verzögerter oder verhinderter Fibrinolyse keinen Aufschluß über die Ansatzstelle der Inhibitoren gibt ( NOORDHOEK HEGT und BRAKMAN 1974 (a) ).

Ein weiterer Nachteil besteht in der Möglichkeit, beim Ausfällen der Inhibitoren, diese durch die zum Ausfällen benutzte Säure zu zerstören.

Ein weiteres Problem stellt die genaue Zuordnung von Inhibitoren zu bestimmten Gewebe dar, da den Präparationstechniken zur Gewinnung von Gewebeteilen, die auf Inhibitoren untersucht werden sollen, Grenzen gesetzt sind.

Hier jedoch bietet sich die von NOORDHOEK HEGT et al.

( 1974 ) entwickelte Methode zum histotopographischen Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren an, die zusammen mit der von PANDOLFI ( 1969 ) entwickelten Methode zur Lysegradeinteilung auch einen quantitativen Nachweis ermöglicht. Hierauf soll im Kapitel 4.1.5. "Verwendete Methode - Fibrinolyseinhibitorennachweis" näher eingegangen werden.



### 3. ZIELSETZUNG

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, ist die gewebeständige Fibrinolyse der Vögel nicht bzw. nur sehr unzureichend untersucht. Theorien und Erkenntnisse stützen sich größtenteils auf Vermutungen ( FLEISHER und LOEB, 1914; GERLACH, 1982 ).

Erkenntnisse auf diesem Gebiet sind jedoch aus klinischer Sicht wünschenswert, z. B. im Hinblick auf den Heilungsverlauf von Hautwunden oder dem Krankheitskomplex "Sohlenballengeschwür".

Ziel dieser Arbeit soll es deshalb sein, zu untersuchen, ob verschiedene aviäre Gewebe zu einer spontanen Fibrinolyse imstande sind und ob, falls dies nicht der Fall ist, Fibrinolyseinhibitoraktivitäten auffindbar sind, die eine Fibrinolyse verhindern.

Desweiteren wurde Wert darauf gelegt, solche Untersuchungsmethoden einzusetzen, die nicht nur eine qualitativ - topographische, sondern auch eine quantitative Bestimmung von Fibrinolyseaktivatoren und -inhibitoren zulassen.

#### 4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

##### 4.1. Material und Methoden

###### 4.1.1. Reagentien und Geräte

###### 4.1.1.1. Nachweis von Fibrinolyseaktivatoren

- Fibrinogen "Human Fibrinogen<sup>R</sup>" plasminogenhaltig  
Behringwerke AG, Marburg
- Thrombin "Topostasin<sup>R</sup>" vom Rind  
Hoffmann - La Roche Ag, Grenzach Wyhlen
- Phosphatpuffer, 0,06 molare  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - Lösung, pH 7,8  
Merck, Art. 4873
- Einbettmasse für Tiefgefrierschnitte "OCT Tissue -  
TEK II<sup>R</sup>", Lab - Tek Products, Division Miles  
Laboratories Inc., Illinois
- Cryocut<sup>R</sup>, American Optical Corp., Buffalo
- Ketanest<sup>R</sup>, 10 und 50 mg/ml, Parke Davis

###### 4.1.1.2. Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren

- Fibrinogen vom Rind, plasminogenfrei  
Poviet Producten BV, Amsterdam
- Thrombin "Thrombin Reagent Leo<sup>R</sup>" vom Rind  
Leo Pharmaceutical Prod.; Ballerup, Denmark
- Plasmin "Forschungspasmin Kabi<sup>R</sup>"  
Deutsche Kabi - Vitrum GmbH, München
- Gelatine  
Merck, Art. 4070

- Phosphatpuffer, 0,06 molare  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - Lösung, pH 7,8  
Merck, Art. 4873
- Einbettmasse für Tiefgefrierschnitte: sterile,  
physiologische Natriumchloridlösung
- Cryocut<sup>R</sup>, American Optical Corp., Buffalo
- Ketanest<sup>R</sup>, 10 und 50 mg/ml, Parke Davis

#### 4.1.2. In Anspruch genommene Vögel

Insgesamt wurden auf fibrinolytische Aktivität Gewebe von 93 Vögeln, auf Fibrinolyseinhibitoren Gewebe von 21 Vögeln untersucht.

Da die Tiere nach der Gewebeentnahme getötet werden mußten, wurde aus tierschützerischen Gründen weitestgehend auf Tiere zurückgegriffen, die ohne menschliche Obhut nicht mehr lebensfähig waren.

Um einen möglichen Einfluß des Krankheitsgeschehens, das zu dieser eingeschränkten Überlebensfähigkeit führte, auf die fibrinolytische Aktivität auszuschließen, wurde nach Vorberichten unterschieden (siehe Kapitel 5.1.8. "Fibrinolytische Aktivität in Abhängigkeit vom Vorbericht der untersuchten Tiere").

|                                                   |    |                                                                        |
|---------------------------------------------------|----|------------------------------------------------------------------------|
| ACCIPITRIFORMES ( Greifvögel )                    | 12 | Buteo buteo, L., 1758 ( Mäusebussard )                                 |
|                                                   | 4  | Accipiter gentilis, L., 1758 ( Habicht )                               |
|                                                   | 3  | Accipiter nisus, L., 1758 ( Sperber )                                  |
| FALCONIFORMES ( Falken )                          | 6  | Tinnunculus tinnunculus, L., 1758 ( Turmfalke )                        |
| STRIGIFORMES ( Eulen )                            | 5  | Strix aluco, L., 1758 ( Waldkauz )                                     |
|                                                   | 4  | Asio otus, L., 1758 ( Walldohreule )                                   |
| APODIFORMES ( Segler )                            | 9  | Apus apus, L., 1758 ( Mauersegler )                                    |
| PSITTACIFORMES ( Papageien )                      | 5  | Psittacus erithacus, L. 1758 ( Graupapagei )                           |
| PASSERIFORMES ( Sperlingsvögel )                  | 11 | Corvus frugilegus, L., 1758 ( Saatkrähe )                              |
|                                                   | 6  | Corvus corone, L., 1758 ( Rabenkrähe )                                 |
| COLUMBIFORMES ( Taubenvögel )                     | 7  | Columba livia, Gmel. 1789, forma urbana ( Stadttaube )                 |
| PHASIANIFORMES ( Hühnervögel )<br>( GALLIFORMES ) | 6  | Gallus gallus, L., 1758, var. domestica ( weiße Leghorn-<br>hybriden ) |
| LARIFORMES ( Mörenvögel )                         | 6  | Chroicocephalus ridibundus, L., 1758 ( Lachmöwe )                      |
| ANATIFORMES ( Entenvögel )<br>( ANSERIFORMES )    | 7  | Anas platyrhynchos, L., 1758 ( Stockente )                             |

n = Anzahl der untersuchten Vögel

#### 4.1.3. Gewinnung von Gewebematerial

Die mit 50 mg/kg Körpergewicht Ketanest<sup>R</sup> narkotisierten Tiere werden entlang der Medianlinie laparatomiert und Lungen- und Lebergewebewürfel mittels Skalpell und Pinzette entnommen, wobei darauf zu achten ist, das die Gewebeproben nicht gequetscht oder gerissen werden. Um das Gewebe im Cryocut<sup>R</sup> auffrieren zu können, sollten die Proben nicht größer als 0,5 x 0,5 cm sein. Zur Entnahme von Venengewebe werden die Vena cava caudalis und die sich aus diesem Stamm aufgabelnden Venae renales effe-  
rentes dexter vel sinister gewählt. Aus arbeitstech-  
nischen Gründen wurde es mit umgebendem Nierengewebe ent-  
nommen.

Nach Entnahme der Gewebeproben und vorsichtigem Abstreifen von eventuell anhaftenden Blut werden diese sofort auf Trockeneis schockgefroren, einzeln in kleine Gläschen licht- und luftdicht verpackt und bei - 20° C bis zur Untersuchung gelagert.

#### 4.1.4. Verwendete Methode - Fibrinolyse nachweis

##### 4.1.4.1. Arbeitsgang

Zum histotopographischen Nachweis gewebeständiger Plasminogenaktivatoren wurde die von TODD ( 1959, 1964 ) entwickelte Fibrinolyseautographie - Technik angewendet. Die Quantifikation der gewebeständigen Plasminogenaktivatoren erfolgte nach PANDOLFI et. al. ( 1969 ).

Herstellung der plasminogenhaltigen Fibrinfilme auf Objektträgern:

Dazu werden 100  $\mu$ l plasminogenhaltige Fibrinogenlösung ( 2% ig, gelöst in physiologischer Natriumchloridlösung ) auf einem Objektträger auf eine Fläche von etwa 4 x 2,5 cm ausgestrichen, 100  $\mu$ l plasminogenhaltige Thrombinlösung ( 25 E/ml, gelöst in Phosphatpuffer ) dazugegeben und durch systematisches Schwenken miteinander vermischt. Um gleichmäßig dicke Fibrinfilme zu erhalten werden die Objektträger auf ein waagrecht nivelliertes Tischchen gelegt. Nach 10 Minuten Koagulationszeit haben sich die Fibrinfilme soweit stabilisiert, daß sie in feuchte Kammern gelegt werden können, um sie vor Austrocknung zu bewahren. Nach einer halben Stunde können die Fibrinfilme weiter verarbeitet werden.

Für die Kontrollen müssen Fibrinfilme hergestellt werden, die plasminogenfrei sind. Das Gießen dieser Fibrinfilme erfolgt im Prinzip wie oben beschrieben. Jedoch werden plasminogenfreie Fibrinogen - und Thrombinlösungen verwendet.

Die zu untersuchenden Gewebeproben werden im Cryocut<sup>R</sup> unter Wahrung der Temperatur von - 20 bis - 30° C mittels der Einbettmasse "OCT Tissue - Tek II<sup>R</sup>" auf Cryocut<sup>R</sup> - Schneidetischchen durch Auffrieren befestigt

und in das Mikrotom eingespannt.

Im Cryocut<sup>R</sup> werden bei - 20 bis - 30° C Tiefgefrierschnitte von 10 µm Dicke angefertigt und auf die Fibrinfilme aufgelegt ( Abb. 1 ). Von einer Gewebeprobe werden jeweils 4 Cryocutschnitte angefertigt, die auf zwei Objektträger verteilt werden..

Die so vorbereiteten Präparate werden im Brutschrank bei 37° C für jeweils 1 bis 4 Stunden je Gewebeprobe in Intervallschritten von 1 Stunde inkubiert. Die Inkubationszeiten von 1 bis 4 Stunden wurden durch Vorversuche als günstigste Intervalle ermittelt.

Während dieser Zeit können die gewebeständigen Fibrinolyseaktivatoren in den Fibrinfilm diffundieren, dort das Plasminogen zu Plasmin umwandeln, welches wiederum eine Lyse des Fibrinfilmes bewirkt.

Nach Ablauf der jeweiligen Inkubationsdauer stoppt man die Reaktion durch Fixieren mit 3,5% igem Formalin und färbt mit Hämalaun - Eosin.

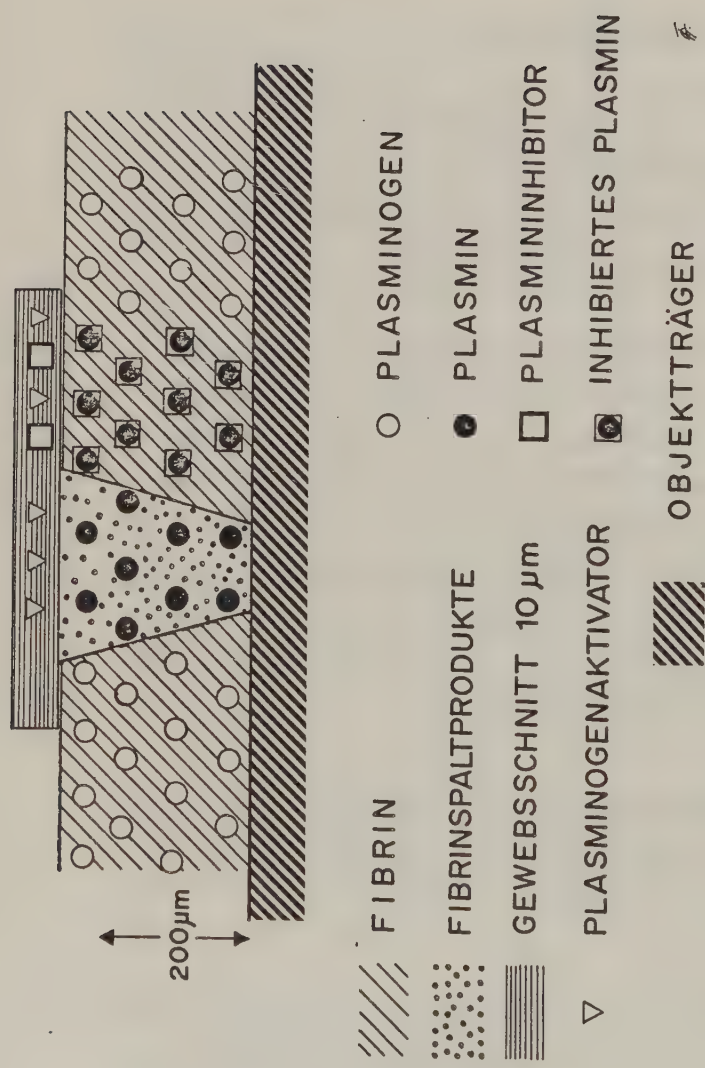


Abb. 1 : Histochemischer Nachweis von gewebeständigen Plasminogenaktivatoren ( Schemazeichnungen aus dem Institut für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München ( IECTUM ) )

#### 4.1.4.2. Auswertung

Die gefärbten Präparate werden mit dem Mikroskop ausgewertet.

Dort, wo Plasminogenaktivatoren aus dem Gewebe in den Fibrinfilmm diffundiert sind und Plasminogen in Plasmin umgewandelt worden ist, findet eine Lyse des Fibrinfilmes statt. Die Anwesenheit von Plasminogenaktivatoren stellt sich im mikroskopischen Bild als Aufhellung im uniformen Hintergrund des gefärbten Fibrinfilmes dar.

Die Quantifizierung der gewebeständigen Plasminogenaktivatoren erfolgt durch Einteilung in Fibrinolysegrade nach PANDOLFI et al. ( 1969 ) ( siehe Abb. 2 ):

- Fibrinolysegrad 1 : kleine, punktförmige oberflächliche Lysezonen
- Fibrinolysegrad 2 : konfluierende Lysezonen
- Fibrinolysegrad 3 : massive Digestion des Fibrinfilmes, Gewebeschnitte schwimmen unter Umständen ab

Um eine abgestufte Quantifizierung von gewebeständigen Plasminogenaktivatoren im Vogelgewebe zu erhalten, erwies es sich als notwendig, die 3 - Punkte - Graduierung nochmals in halbe Lysegrade zu unterteilen.

# INTENSITÄT DER LYSE

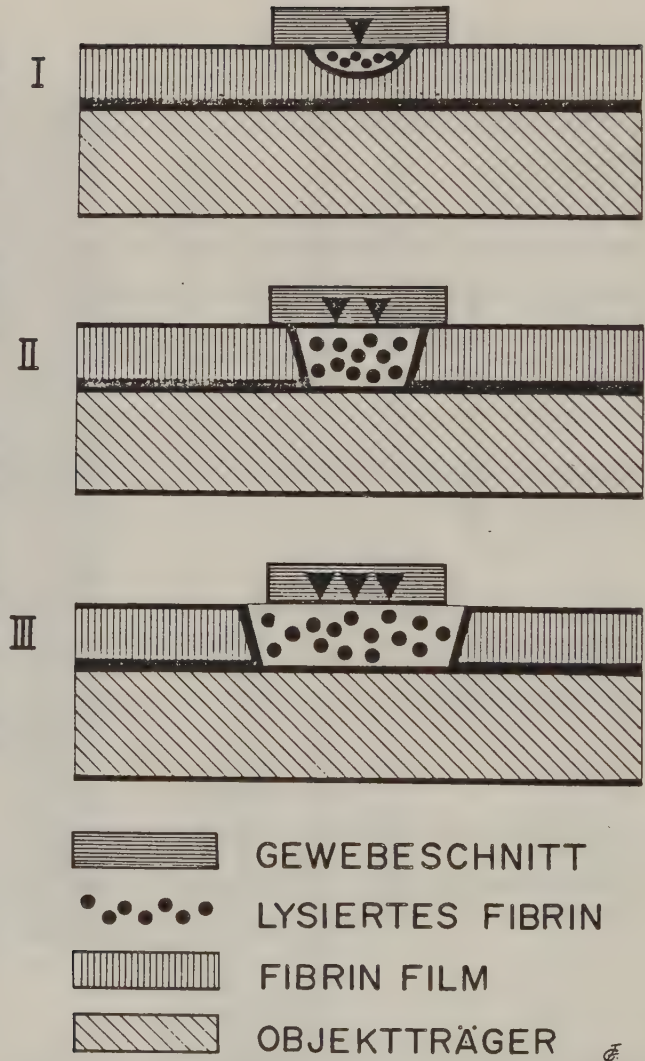


Abb. 2 : Quantifizierung von gewebeständigen Plasminogenaktivatoren durch Einteilung in Lysegrade von 1 - 3 ( IECTUM )

Beispielsweise entspricht eine Lyse von 0 - 1 dem Lysegrad 0,5. ( Die Lysehöfe sind in den bildlichen Darstellungen ( Abb. 7 - 19 ) mit Pfeilen markiert )

#### 4.1.4.3. Kontrollen

Folgende Kontrollen wurden durchgeführt:

- Mikromorphologische Untersuchung der Präparate auf Blutleere und pathologische Veränderungen
- Ausschluß von unspezifischen Proteasen durch Verwendung von plasminogenfreiem Fibrinogen und Thrombin
- Auswertung von jeweils vier Gewebeschnitten pro Inkubationszeit

#### 4.1.5. Verwendete Methode - Plasmininhibitorennachweis

##### 4.1.5.1. Arbeitsgang

Zum histotopographischen und quantitativen Nachweis von Plasmininhibitoren wurde folgende Modifikation ( BLASINI 1979 ) der von NOORDHOEK HEGT und BRAKMAN ( 1974 (a) ) entwickelten Methode verwendet.

Zunächst werden die zu untersuchenden Gewebeproben unter Wahrung der Temperatur von - 20 bis - 30° C im Cryocut<sup>R</sup> auf Cryocut<sup>R</sup> - Schneidetischen befestigt. Dies erfolgt durch Auffrieren mittels physiologischer

Natriumchloridlösung. Sodann werden nach Einspannen der Schneidetischen in das Mikrotom Tiefgefrierschnitte von 16  $\mu$ m Dicke angefertigt und auf einen Objektträger aufgebracht.

Anschließend werden die Gewebeschnitte mit einem 200  $\mu$ m dicken plasminogenfreien Fibrinfilmm über-schichtet. Zu diesem Zweck werden zunächst 100  $\mu$ l plasminogenfreies Fibrin ( gelöst in 0,7% igem Phosphatpuffer ) auf dem Objektträger über das Ge-webe hinweg auf eine Fläche von etwa 4 x 2,5 cm aus-gestrichen. Dann werden 100  $\mu$ l plasminogenfreies Thrombin ( 4 NIH/U ml ( NIH  $\hat{=}$  National Institute of Health - Einheit; eine NIH - Einheit koaguliert einen ml einer standardisierten Fibrinogenlösung in 15 Se-kunden bei 28° C ), gelöst in physiologischer Koch-salzlösung ) zugegeben und durch systematisches Schwenken mit der Fibrinlösung vermischt.

Danach werden die Objektträger in waagrecht nivell-ierte feuchte Kammern verbracht, in denen sie für 90 Minuten bei +2° C bis +4° C belassen werden. In dieser Zeit diffundieren die Plasmininhibitoren in den darüberliegenden Fibrinfilmm. Die gleichzeitig in den Fibrinfilmm gelangenden Plasminogenaktivatoren können ihre Wirkung nicht entfalten, da der Fibrin-

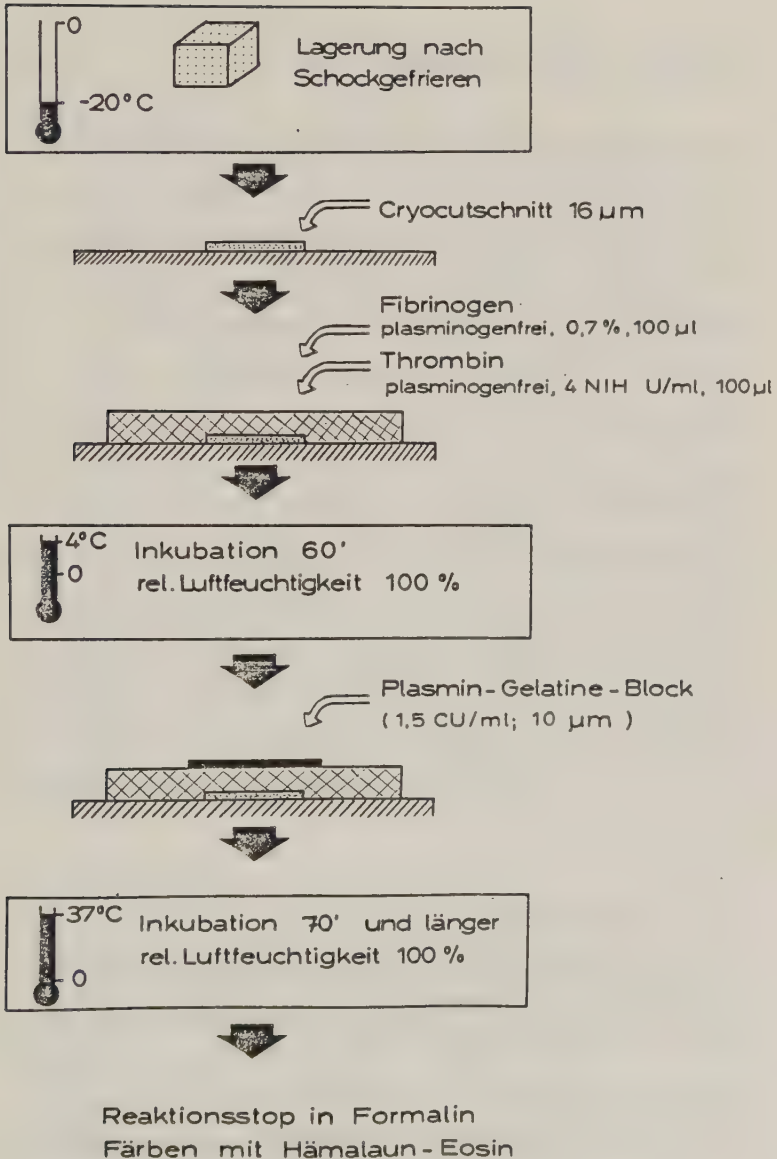


Abb. 3 : Darstellung des Arbeitsganges ( IECTUM )

film kein Plasminogen enthält.

Sodann wird ein 20  $\mu$ m dicker Tiefgefrierschnitt einer Plasmin - Gelatine - Lösung ( 1,49 E Plasmin / ml, 25% ige Gelatinelösung, gelöst in physiologischer Natriumchloridlösung ) genau über den Gewebeschnitt aufgebracht. Der Tiefgefrierschnitt der Plasmin - Gelatine - Lösung hat einen Durchmesser von 1 cm ( Abb. 3 und 4 ).

Im Brutschrank läßt man das Plasmin bei 37° C in den feuchten Kammern auf den Fibrinfilm einwirken. Die Inkubationszeiten von 70 bis 110 Minuten wurden durch Vorversuche als günstigste Zeiten ermittelt ( siehe auch Kapitel 4.1.5.2. "Auswertung" ). Nach Ablauf der Zeit wird die Reaktion durch Fixierung in 3,5% igem Formalin gestoppt. Gefärbt wird danach mit Hämalaun - Eosin.

#### 4.1.5.2. Auswertung

Die erste Inkubationszeitstufe von 70 Minuten ist so gewählt, daß die Plasminmenge im aufgelegten Gelatine - Plasmin - Plättchen eine vollständige Lyse des darunterliegenden Fibrinfilmes herbeiführt ( Abb. 5 und 6 ). Enthält das darunterliegende Gewebe Plasmininhibitoren, so werden diese in den Fibrinfilm diffundieren und dort

die Lyse des Fibrinfilmes verzögern; der Fibrinfilm bleibt länger als 70 Minuten erhalten.

Die Zeitdauer der Verzögerung der Fibrinfilmyse ist direkt proportional abhängig von der vorhandenen Plasmininhibitormenge. Sie dient daher als Maß zur Bestimmung der Inhibitoraktivität. Jeder Inkubationszeitstufe von 70, 80, 90, 100 und 110 Minuten wird in ansteigender Reihenfolge eine Rangziffer von 1 bis 5 zugeordnet ( beispielsweise 1 für 70 Minuten, 2 für 80 Minuten usw. ). So wird ein Vergleich der ermittelten Plasmininhibitoraktivität ermöglicht.

Die zugehörige Rangzahl zur letzten Inkubationszeitstufe, bei der noch ein zusammenhängender Fibrinfilm über dem Gewebe ausgemacht werden kann, gibt den Grad des Inhibitionseffektes an. Tritt bei 70 Minuten kein Inhibitionseffekt auf, so wird dieser Gewebeprobe der Inhibitionsgrad 0 zugeordnet.

#### 4.1.5.3. Kontrollen

folgende Kontrollen wurden durchgeführt:

- Mikromorphologische Untersuchung der histologischen Präparate auf Blutleere und pathologische Veränderungen
- Überprüfung der vollständigen Lyse des Fibrinfilmes durch Auflegen eines Plasminplättchens auf einen Fibrinfilm ohne Gewebsschnitt

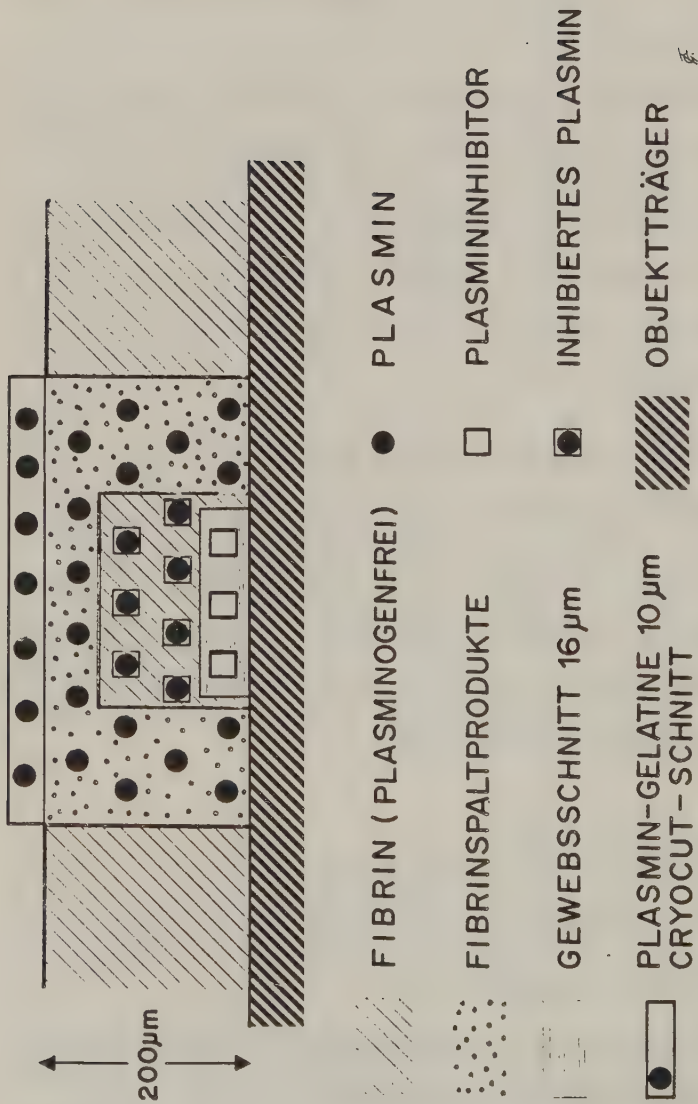


Abb. 4 : Histochemischer Nachweis gewebeständiger Plasmininhibitoren ( LECTUM )

Beurteilung nach 70'



Inhibitionseffekt



Inkubationszeit > 70'  
Bestimmung des Zeitpunktes  
bei dem zum letzten Mal ein  
Inhibitionseffekt beobachtet wird.



kein Inhibitionseffekt

Abb. 5 : Darstellung der Auswertungsmethode ( IECTUM )

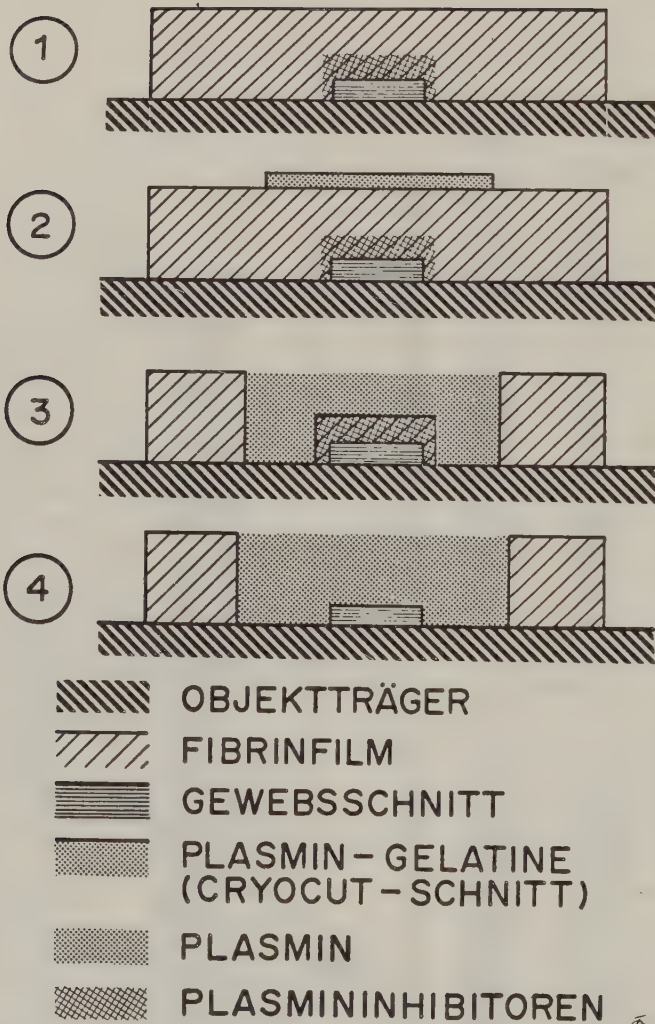


Abb. 6 : Schematische Darstellung des Reaktions-  
ablaufes ( LECTUM ):

1. Diffusion von Plasmininhibitoren
2. Aufbringen von Plasmin
3. Fehlende Fibrinolyse im Inhibitorbe-  
reich nach 70 Minuten
4. Lyse erst nach längerer Inkubationszeit

## 5. ERGEBNISSE

### 5.1. Fibrinolyse nachweis

#### 5.1.1. ACCIPITRIFORMES ( Greifvögel )

##### 5.1.1.1. Buteo buteo ( Mäusebussard )

Lungen- und Venengewebe von Mäusebussarden wurde auf fibrinolytische Aktivität untersucht.

#### Lungengewebe:

Es konnten Plasminogenaktivator - Aktivitäten nachgewiesen werden. Nach 2 Stunden Inkubationszeit zeigten 8,3 %, nach 3 Stunden 75 % der Lungengewebspräparate den Lysegrad 0,5. Nach Verlängerung der Inkubationszeit auf vier Stunden zeigten 100 % der Lungengewebspräparate eine Lyse des Fibrinfilmes, und zwar 58,3 % den Lysegrad 0,5 und 41,6 % den Lysegrad 1. ( Tab. 1, Abb. 7, 9 und 10 ).

In diesem Zusammenhang ist zu bemerken, daß die Gewebeproben, die nach drei Stunden keine lytische Aktivität zeigten, regelmäßig nach vier Stunden auch nur den Lysegrad 0,5 zeigten.

#### Venengewebe:

Die fibrinolytische Aktivität der Venengewebspräparate war weniger stark ausgeprägt ( Tab. 1, Abb. 8 ), da sie

Tab. 1 : ACCIPITRIFORMES ( Mäusebussarde )

| Gewebeart | Inkubations-<br>zeit | Buteo buteo - Exemplar Nr. |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----------|----------------------|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|           |                      | 1                          | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12  |
| Lunge     | 1 h                  | ∅                          | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |
|           | 2 h                  | ∅                          | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | 0,5 | ∅   | ∅   |
|           | 3 h                  | 0,5                        | ∅   | 0,5 | ∅   | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | ∅   | 0,5 |
|           | 4 h                  | 1                          | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 1   | 0,5 | 0,5 | 1   | 1   | 1   | 0,5 | 1   |
|           | Kontrolle            | ∅                          | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |
| Vene      | 1 h                  | ∅                          | ∅   | ∅   | -   | -   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | -   |
|           | 2 h                  | ∅                          | ∅   | ∅   | -   | -   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | -   |
|           | 3 h                  | ∅                          | ∅   | 0,5 | -   | -   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | -   |
|           | 4 h                  | 0,5                        | 0,5 | 0,5 | -   | -   | 0,5 | ∅   | 0,5 | 0,5 | 0,5 | ∅   | -   |
|           | Kontrolle            | ∅                          | ∅   | ∅   | -   | -   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | -   |
| Leber     | 1 h                  |                            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|           | 2 h                  |                            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|           | 3 h                  |                            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|           | 4 h                  |                            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|           | Kontrolle            |                            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

0,5 + 1 ≙ Lysegrade    ∅ ≙ negativ    - ≙ nicht auswertbar

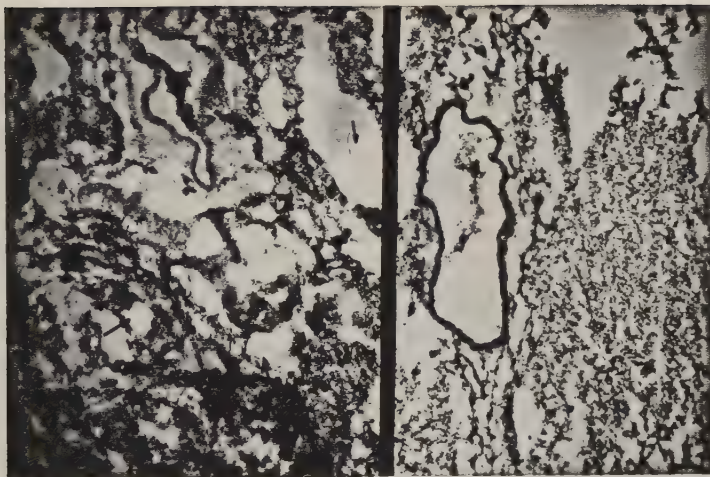


Abb. 7 : Mäusebussard - Lunge ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationszeit ), links: negative Kontrolle, rechts: Fibrinolysese grad 1 ( Lysehöfe mit  $\rightarrow$  gekennzeichnet )

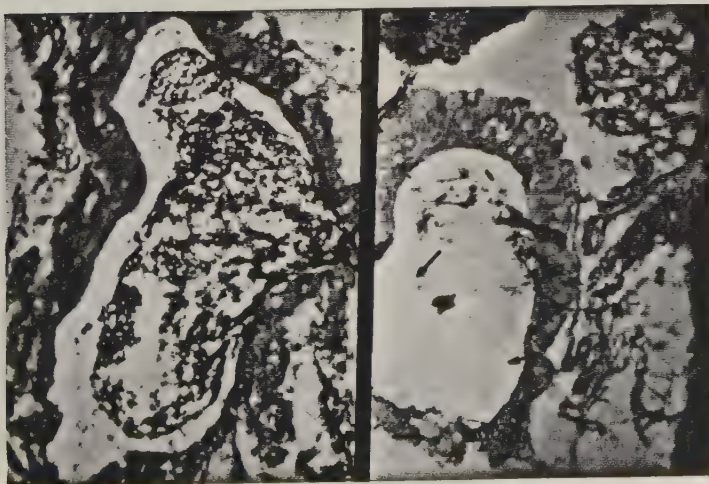


Abb. 8 : Mäusebussard - Vene ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationszeit ), links: negative Kontrolle, rechts: Fibrinolysese grad 0,5

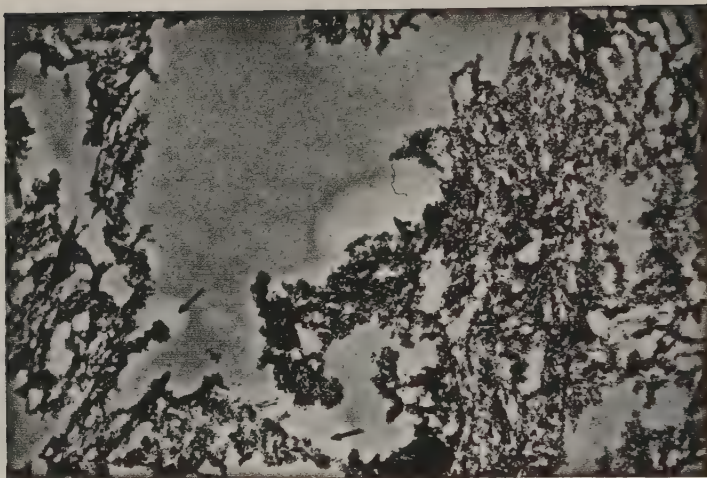


Abb. 9 : Mäusebussard - Lunge ( HE, 20 x, 3 Stunden Inkubationszeit ), Lysegrad 0,5

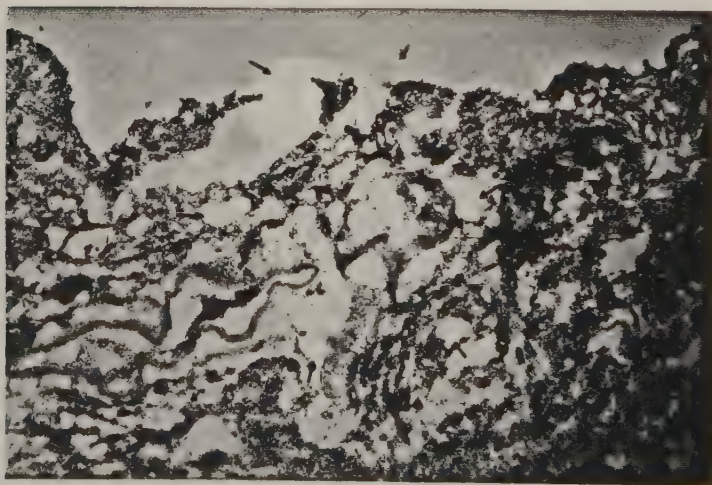


Abb. 10 : Mäusebussard - Lunge ( 20 x, 4 Stunden Inkubationszeit ), Lysegrad 1

durchweg eine längere Inkubationszeit bis zum Sichtbarwerden eines fibrinolytischen Effektes benötigten, und nur ein Lysegrad von 0,5 erreicht wurde.

Nach drei Stunden Inkubationszeit zeigten 11 %, nach vier Stunden Inkubationszeit 77 % der Venengewebspräparate den Lysegrad 0,5.

Die Präparate 4, 5 und 12 konnten nicht ausgewertet werden, da die Gewebeproben kein Venengewebe enthielten.

Kontrollen:

Die in allen Fällen negative Kontrolle schloß eine mögliche Lyse durch unspezifische Proteolyse aus.

#### 5.1.1.2. Accipiter gentilis ( Habicht )

Lungen- und Venengewebe von Habichten wurde auf den Gehalt an Plasminogenaktivatoren untersucht.

Lungengewebe:

In allen untersuchten Lungengewebspräparaten konnten Plasminogenaktivator - Aktivitäten nachgewiesen werden. Einheitlich trat nach vier Stunden Inkubationsdauer ein Lyseeffekt mit einem Fibrinolysegrad von 0,5 auf.

( Tab. 2 )

#### Venengewebe:

Die Stärke der fibrinolytischen Aktivität im Venengewebe von Habichten ist mit der der fibrinolytischen Aktivität im Lungengewebe vergleichbar. Von untersuchten Venengeweben zeigte eine bereits nach drei Stunden Inkubationsdauer fibrinolytische Aktivitäten mit einem Lysegrad von 0,5. Alle übrigen, wie auch die bereits nach drei Stunden Inkubationszeit Aktivität zeigende Gewebeprobe, bewirkte nach vier Stunden Inkubationszeit eine Lyse des Fibrinfilmes mit einem Lysegrad von 0,5. ( Tab. 2 )

#### Kontrollen:

In allen Fällen negative Kontrollen sicherten den Nachweis von gewebeständigen Plasminogenaktivatoren ab.

#### 5.1.1.3. Accipiter nisus ( Sperber )

Lungen- und Venengewebe des Sperbers wurden auf fibrinolytische Aktivitäten mit folgendem Ergebnis untersucht:

#### Lungengewebe:

Plasminogenaktivatoren im Lungengewebe von Sperbern konnten nachgewiesen werden. Sie bewirkten in zwei Fällen bereits nach zwei Stunden Inkubationsdauer einen Lysiseffekt mit Lysegrad 0,5. Einheitlich fand sich nach drei Stunden Inkubationsdauer in allen Gewebspräparaten

Tab. 2 : ACCIPITRIFORMES : A. gentilis ( Habicht ) + A. nisus ( Sperber )

| Gewebeart | Inkubations-<br>zeit | Accipiter gentilis                                                                |     |     |     | Accipiter nisus                                                                   |     |     |
|-----------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
|           |                      | 1                                                                                 | 2   | 3   | 4   | 1                                                                                 | 2   | 3   |
| Lunge     | 1 h                  | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   | ∅   | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   |
|           | 2 h                  | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   | ∅   | 0,5                                                                               | ∅   | 0,5 |
|           | 3 h                  | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   | ∅   | 0,5                                                                               | 0,5 | 0,5 |
|           | 4 h                  | 0,5                                                                               | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 1                                                                                 | 1   | 1   |
|           | Kontrolle            | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   | ∅   | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   |
| Vene      | 1 h                  | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   | ∅   | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   |
|           | 2 h                  | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   | ∅   | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   |
|           | 3 h                  | 0,5                                                                               | ∅   | ∅   | ∅   | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   |
|           | 4 h                  | 0,5                                                                               | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5                                                                               | 0,5 | 0,5 |
|           | Kontrolle            | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   | ∅   | ∅                                                                                 | ∅   | ∅   |
| Leber     | 1 h                  |  |     |     |     |  |     |     |
|           | 2 h                  |                                                                                   |     |     |     |                                                                                   |     |     |
|           | 3 h                  |                                                                                   |     |     |     |                                                                                   |     |     |
|           | 4 h                  |                                                                                   |     |     |     |                                                                                   |     |     |
|           | Kontrolle            |                                                                                   |     |     |     |                                                                                   |     |     |

0,5 + 1 = Lysegrade      ∅ = negativ

ein Lysegrad von 0,5 und nach vier Stunden Inkubationsdauer ein Lysegrad von 1. ( Tab. 2 )

#### Venengewebe:

Alle untersuchten Venengewebspräparate zeigen nach vier Stunden Inkubationsdauer einheitlich eine Lyse des Fibrinfilmes mit einem Lysegrad von 0,5. ( Tab. 2 )

#### Kontrollen:

Alle Kontrollen waren negativ. Eine unspezifische Proteolyse des Fibrinfilmes konnte somit ausgeschlossen werden.

### 5.1.2. FALCONIFORMES ( Falken )

#### Tinnunculus tinnunculus ( Turmfalke )

Es wurden Lungen-, Leber-, und Venengewebe von Turmfalken auf fibrinolytische Aktivitäten untersucht. Dabei konnten keine Plasminogenaktivatoren nachgewiesen werden, mit Ausnahme eines Lungengewebspräparates, daß nach vier Stunden Inkubationsdauer den Lysegrad von 0,5 zeigte.

### 5.1.3. STRIGIFORMES ( Eulen )

#### 5.1.3.1. Strix aluco ( Waldkauz )

Lungen-, Venen-, und Lebergewebe von Waldkäuzen wurden auf fibrinolytische Aktivitäten untersucht.

#### Lungengewebe:

In allen untersuchten Gewebeproben konnte das Vorhandensein von Plasminogenaktivatoren nachgewiesen werden. Die im Lungengewebe enthaltenen Plasminogenaktivatoren führten nach drei Stunden Inkubationszeit einheitlich zu einer Lyse des Fibrinfilmes mit einem Lysegrad von 0,5. Ein solcher fand sich ebenfalls in allen Lungengewebspräparaten, die für vier Stunden inkubiert worden waren. ( Tab. 3 )

#### Venen- und Lebergewebe:

Im Venen- und Lebergewebe des Waldkauzes wurden keine Plasminogenaktivatoren gefunden. Eine Lyse der Fibrinfilme blieb in allen Fällen aus. ( Tab. 3 )

#### Kontrollen:

Die Kontrollen der Lungengewebspräparate waren negativ. Somit konnte eine Anwesenheit unspezifischer Proteolysen ausgeschlossen werden.

#### 5.1.3.2. Asio otus ( Waldohreule )

Lungen-, Venen-, und Lebergewebe von Waldohreulen wurden auf ihren Gehalt an Plasminogenaktivatoren untersucht. Eine Lyse des Fibrinfilmes blieb jedoch in allen Fällen aus. Dies bedeutet, daß Plasminogenaktivatoren in den untersuchten Geweben von Waldohreulen nicht vorhanden sind.

Tab. 3 : STRIGIFORMES : Strix aluco ( Waldkauz )

| Gewebeart | Inkubations-<br>zeit | Strix aluco |     |     |     |     |
|-----------|----------------------|-------------|-----|-----|-----|-----|
|           |                      | 1           | 2   | 3   | 4   | 5   |
| Lunge     | 1 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | 2 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | 3 h                  | 0,5         | 0,5 | 0,5 | 0,5 | Ø   |
|           | 4 h                  | 0,5         | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
|           | Kontrolle            | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           |                      |             |     |     |     |     |
| Vene      | 1 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | 2 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | 3 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | 4 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | Kontrolle            | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           |                      |             |     |     |     |     |
| Leber     | 1 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | 2 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | 3 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | 4 h                  | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           | Kontrolle            | Ø           | Ø   | Ø   | Ø   | Ø   |
|           |                      |             |     |     |     |     |

0,5 ≙ Lysegrade    Ø ≙ negativ

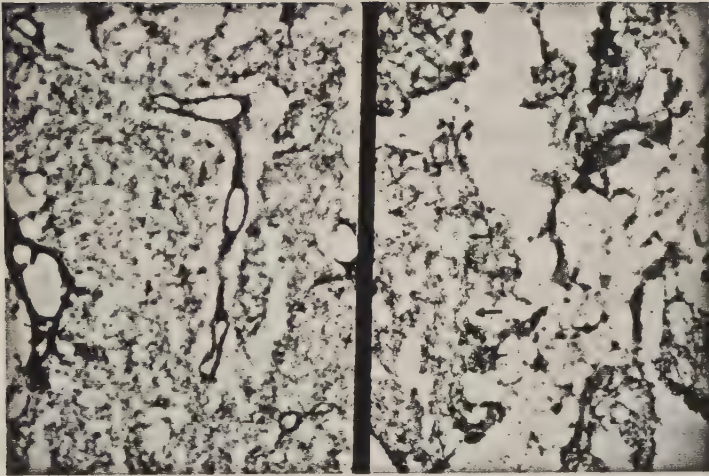


Abb. 11 : Waldkauz - Lunge ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationszeit ), links: negative Kontrolle, rechts: Lysegrad 0,5

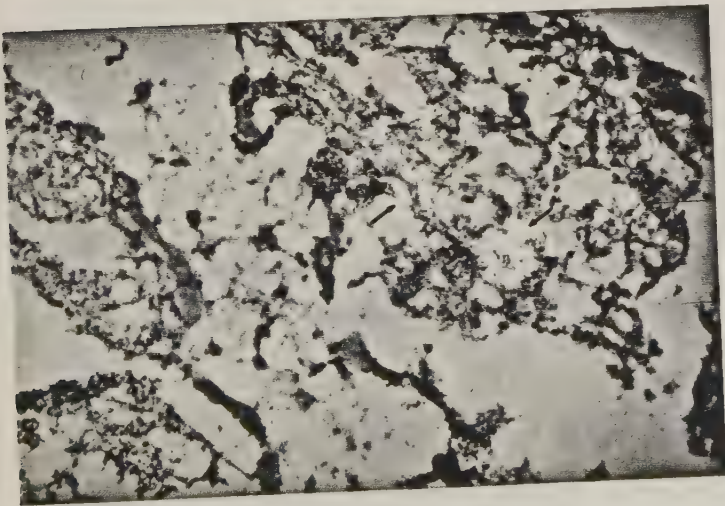


Abb. 12 : Waldkauz - Lunge ( HE, 30 x, 4 Stunden Inkubationszeit ), Lysegrad 0,5

5.1.4. APODIFORMES ( Segler )

Apus apus ( Mauersegler )

Lungen-, Venen-, und Lebergewebe von Mauerseglern wurde auf fibrinolytische Aktivität untersucht.

Lungengewebe:

Es konnten Plasminogenaktivatoren nachgewiesen werden: Sie bewirkten in 11 % der Fälle nach drei Stunden Inkubationsdauer und in 77 % der untersuchten Lungengewebspräparate nach vier Stunden Inkubationsdauer eine Lyse des Fibrinfilmes mit einem Lysegrad von 0,5.

( Tab. 4 )

Venengewebe:

Das Venengewebe zeigte keine fibrinolytische Aktivitäten mit einer Ausnahme, bei der nach vier Stunden Inkubationsdauer der Lysegrad von 0,5 auftrat.

( Tab. 4 ).

Zwei Gewebeproben konnten nicht ausgewertet werden, da die Gewebeproben kein Venengewebe enthielten.

Lebergewebe

Plasminogenaktivatoren konnten im Lebergewebe nicht nachgewiesen werden. ( Tab. 4 )

Tab. 4 : APODIFORMES ( Apus apus )

| Gewebeart | Inkubations-<br>zeit | Apus apus Nr.                                                                     |   |     |   |     |     |     |     |     |   |
|-----------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---|-----|---|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| Lunge     | 1 h                  | ∅                                                                                 | ∅ | ∅   | ∅ | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |   |
|           | 2 h                  | ∅                                                                                 | ∅ | ∅   | ∅ | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |   |
|           | 3 h                  | ∅                                                                                 | ∅ | ∅   | ∅ | 0,5 | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |   |
|           | 4 h                  | 0,5                                                                               | ∅ | 0,5 | ∅ | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |   |
|           | Kontrolle            | ∅                                                                                 | ∅ | ∅   | ∅ | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |   |
| Vene      | 1 h                  | -                                                                                 | ∅ | -   | ∅ | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |   |
|           | 2 h                  | -                                                                                 | ∅ | -   | ∅ | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |   |
|           | 3 h                  | -                                                                                 | ∅ | -   | ∅ | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |   |
|           | 4 h                  | -                                                                                 | ∅ | -   | ∅ | ∅   | ∅   | 0,5 | ∅   | ∅   |   |
|           | Kontrolle            | -                                                                                 | ∅ | -   | ∅ | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   | ∅   |   |
| Leber     | 1 h                  |  |   |     |   |     |     |     |     |     | ∅ |
|           | 2 h                  |                                                                                   |   |     |   |     |     |     |     |     | ∅ |
|           | 3 h                  |                                                                                   |   |     |   |     |     |     |     |     | ∅ |
|           | 4 h                  |                                                                                   |   |     |   |     |     |     |     |     | ∅ |
|           | Kontrolle            |                                                                                   |   |     |   |     |     |     |     |     | ∅ |

0,5 + 1 ≙ Lysegrade      ∅ ≙ negativ      - ≙ nicht auswertbar

Kontrollen:

Die negativen Venengewebe - Kontrollen schlossen eine Lyse des Fibrinfilmes durch unspezifische Proteasen aus.

#### 5.1.5. Sonstige

Folgende weitere Spezies wurden auf fibrinolytische Aktivität des Lungen- und Venengewebes untersucht, bei denen keine Lyse des Fibrinfilmes festgestellt werden konnte ( Abb. 13 - 19 ):

PSITTACIFORMES ( Papageien )

*Psittacus erithacus* ( Graupapageien )

PASSERIFORMES ( Sperlingsvögel )

*Corvus frugilegus* ( Saatkrähe )

*Corvus corone* ( Rabenkrähe )

COLUMBIFORMES ( Taubenvögel )

*Columba livia*, forma urbana ( Stadttaube )

PHASIANIFORMES ((GALLIFORMES ) Hühnervögel )

*Gallus gallus* var. domesticus ( Weiße Leghornhybriden )

LARIFORMES ( Möwenvögel )

*Chroicocephalus ridibundus* ( Lachmöwe )

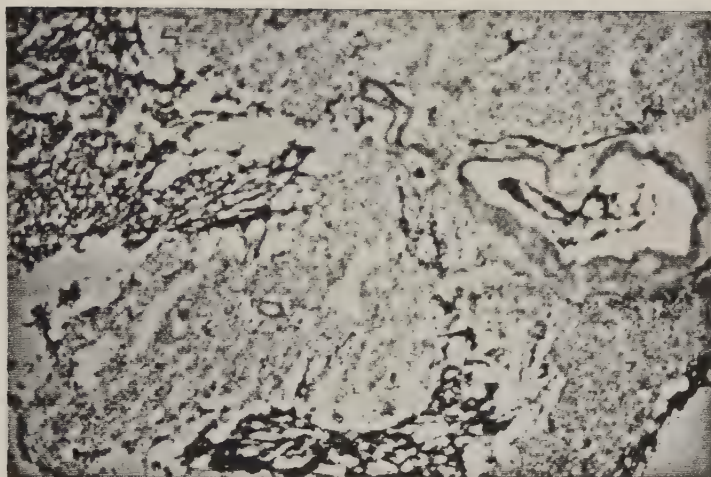


Abb. 13 : Stadttauben - Lunge ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationsdauer ) Fibrinolyse negativ

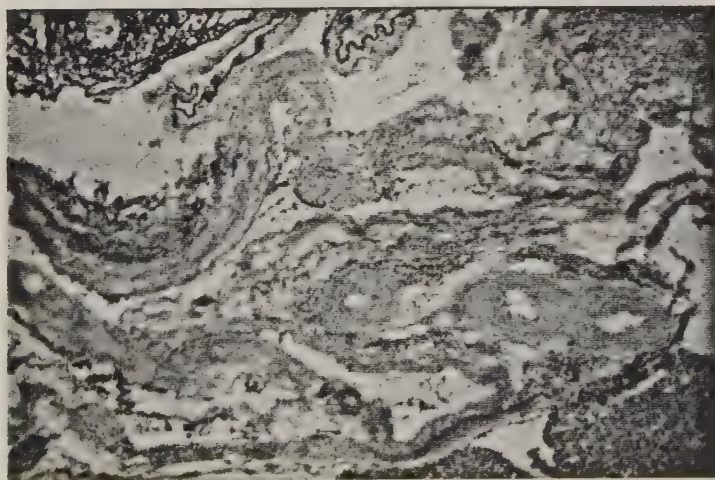


Abb. 14 : Stadttauben - Vene ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationsdauer ) Fibrinolyse negativ

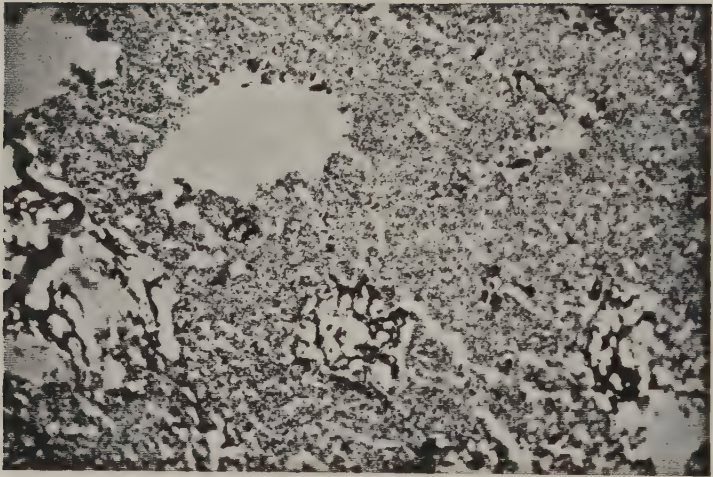


Abb. 15 : Saatkrahen - Lunge ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationsdauer ) Fibrinolyse negativ.

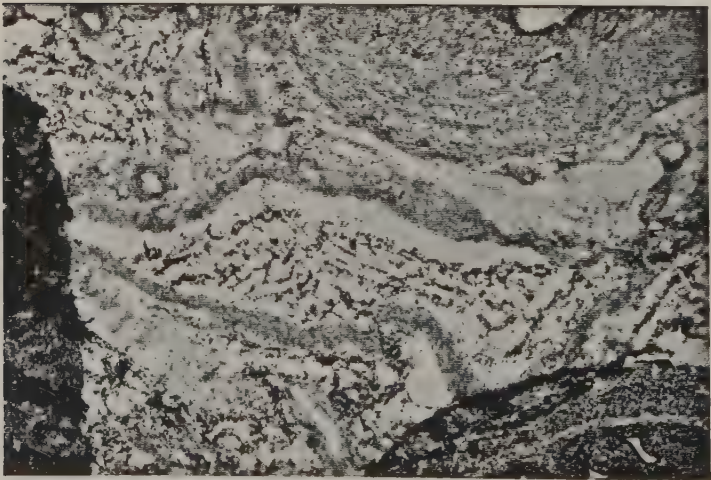


Abb. 16 : Saatkrahen - Vene ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationsdauer ) Fibrinolyse negativ

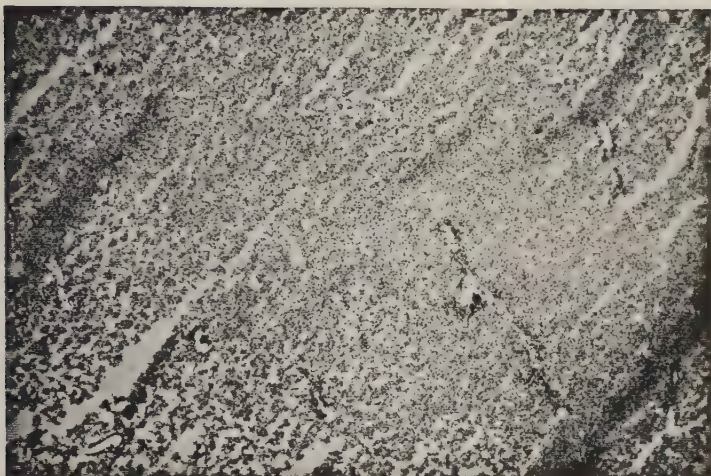


Abb. 17 : Stockenten - Lunge ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationsdauer ) Fibrinolyse negativ

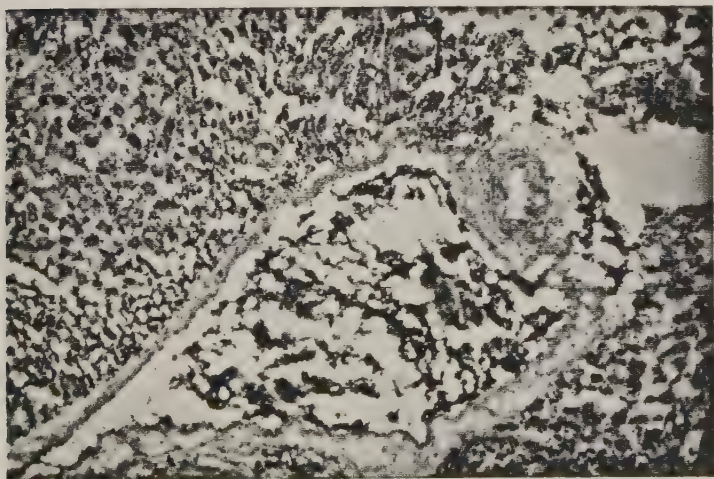


Abb. 18 : Stockenten - Vene ( HE, 30 x, 4 Stunden Inkubationsdauer ) Fibrinolyse negativ

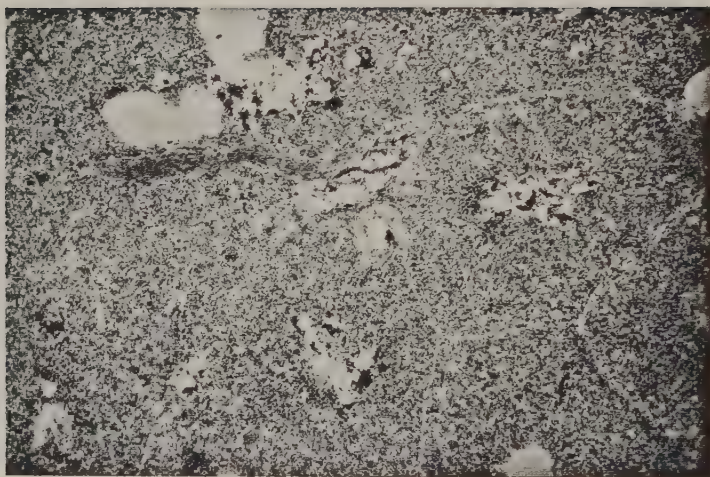


Abb. 19 : Stockenten - Leber ( HE, 20 x, 4 Stunden Inkubationsdauer ) Fibrinolyse negativ

ANATIFORMES (( ANSERIFORMES ) Entenvögel )

Anas platyrhynchos ( Stockente )

5.1.6. Vergleich der fibrinolytischen Aktivität von  
Lungen-, Venen- und Lebergewebe

Den größten Gehalt an Plasminogenaktivatoren findet man im Lungengewebe, während das Venengewebe eine schwächer ausgeprägte fibrinolytische Aktivität zeigt. Am deutlichsten wird dies an den Beispielen des Sperbers und der Mäusebussarde. Bei den Lungengewebspräparaten finden sich im Falle des Sperbers bereits nach 2 Stunden Inkubationszeit fibrinolytische Aktivitäten. Beim Mäusebussard findet man in 75 % der Fälle nach drei Stunden Inkubationszeit den Lysegrad 0,5 und nach vier Stunden Inkubationsdauer in 100 % der Fälle eine Lyse des Fibrinfilmes, wobei in 58,3 % der Lungen - Präparate der Lysegrad 0,5 und in 41,6 % der Lysegrad 1 zu finden ist.

Auch die Lungengewebspräparate des Sperbers zeigen nach 4 Stunden Inkubationszeit eine Lyse des Fibrinfilmes von 1.

Dagegen tritt bei den Venengeweben erst nach vier Stunden eine mikroskopisch sichtbare Lysis des Fibrinfilmes auf, wobei nur ein geringerer Lysegrad erreicht wird, nämlich 0,5, als dies bei den Lungengewebspräparaten der Fall ist. ( Tab. 1 )

Dieses Verhältnis bestätigt sich auch nach Lungen- und Venengewebeuntersuchungen von Waldkauz und Mauersegler. Während Lungengewebe nach drei Stunden bzw. vier Stunden fibrinolytische Aktivitäten zeigt, ist im Venengewebe auch nach vier Stunden Inkubationszeit noch kein Plasminogenaktivator nachzuweisen ( Tab. 2 und 3 ).

Beim Habicht finden sich gleich hohe Aktivitäten an Plasminogenaktivatoren sowohl im Lungen- als auch im Venengewebe. Hier wird nach vier Stunden Inkubationsdauer jeweils Lysegrad 0,5 erreicht.

Im Gegensatz zu Lungengewebe und Venengewebe konnte im Lebergewebe nie ein Gehalt an Plasminogenaktivatoren festgestellt werden.

#### 5.1.7. Vergleich der fibrinolytischen Aktivität von Geweben verschiedener Spezies

Die im Vergleich mit allen untersuchten Spezies am stärksten ausgeprägte Plasminogenaktivator - Aktivität zeigen der Sperber und der Mäusebussard, und bei diesen Spezies die Lungengewebe ( Tab. 1 und 2 ). Der nach der Systematik ( WOLTERS 1975 - 1982 ) zur gleichen Ordnung und zur gleichen Unterfamilie ACCIPITRINAE gehörende Habicht besitzt im Lungengewebe weniger, und im Venengewebe gleich stark ausgeprägte fibrinolytische Aktivitäten.

Hiervon unterscheiden sich die zur gleichen Ordnung STRIGIFORMES und zur gleichen Familie STRIGIDAE gehörenden Spezies des Waldkauzes und der Waldohreule.

Erstere besitzt fibrinolytische Aktivitäten im Lungengewebe, bei der Waldohreule ist weder im Lungen- noch im Venengewebe ein Plasminogenaktivator - Gehalt nachzuweisen.

Der Mauersegler als Vertreter der Ordnung APODIFORMES besitzt in der Lunge Plasminogenaktivator - Aktivitäten, wie sie in gleicher Größenordnung bei Habicht und Waldkauz nachzuweisen waren.

#### 5.1.8. Fibrinolytische Aktivität in Abhängigkeit vom Vorbericht der untersuchten Tiere

Um einen Einfluß des Krankheitsgeschehens der untersuchten Tiere auf die fibrinolytische Aktivität auszuschließen, wurde nach folgenden Vorberichten unterschieden:

Gruppe 1 : Mit frischen Frakturen ( nicht älter als 3 Tage )

Gruppe 2 : Mit älteren Frakturen ( älter als 3 Tage )

Gruppe 3 : Andere Krankheitsgeschehen

Gruppe 4 : Gesunde Tiere

Die untersuchten Tiere verteilten sich auf diese vier Gruppen im einzelnen wie folgt ( Tab. 4 ):

Tab. 4 : Fibrinolyse in Abhängigkeit vom Krankheitsgeschehen

| Gruppe | Ordnung         | Spezies            | n | Lunge  |        |                |  | Vene |        |                     |  |
|--------|-----------------|--------------------|---|--------|--------|----------------|--|------|--------|---------------------|--|
|        |                 |                    |   | 2h     | 3h     | 4h             |  | 2h   | 3h     | 4h                  |  |
| I      | ACCIPITRIFORMES | Buteo buteo        | 1 | Ø      | 0,5(1) | 1(1)           |  | -    | -      | -                   |  |
|        | STRIGIFORMES    | Strix aluco        | 1 | Ø      | 0,5(1) | 0,5(1)         |  | Ø    | Ø      | Ø                   |  |
|        | APODIFORMES     | Apus apus          | 6 | Ø      | 0,5(1) | 0,5(5)         |  | Ø    | Ø      | 0,5(1)              |  |
| II     | ACCIPITRIFORMES | Buteo buteo        | 9 | Ø      | 0,5(7) | 0,5(6)<br>1(3) |  | Ø    | 0,5(1) | 0,5(6) <sup>x</sup> |  |
|        |                 | Accipiter gentilis | 2 | Ø      | Ø      | 0,5(3)         |  | Ø    | 0,5(1) | 0,5(6)              |  |
|        |                 | Accipiter nisus    | 1 | 0,5(1) | 0,5(1) | 1(1)           |  | Ø    | Ø      | 0,5(1)              |  |
|        | STRIGIFORMES    | Strix aluco        | 2 | Ø      | 0,5(2) | 0,5(2)         |  | Ø    | Ø      | Ø                   |  |
|        | APODIFORMES     | Apus apus          | 3 | Ø      | Ø      | 0,5(2)         |  | Ø    | Ø      | Ø <sup>xx</sup>     |  |
| III    | ACCIPITRIFORMES | Buteo buteo        | 2 | 0,5(1) | 0,5(1) | 0,5(1)<br>1(1) |  | Ø    | Ø      | 0,5(1)              |  |
|        |                 | Accipiter gentilis | 2 | Ø      | Ø      | 0,5(2)         |  | Ø    | Ø      | 0,5(2)              |  |
|        |                 | Accipiter nisus    | 2 | 0,5(1) | 0,5(2) | 1(2)           |  | Ø    | Ø      | 0,5(2)              |  |

Ø ≙ Fibrinolyse negativ

- ≙ nicht auswertbar

0,5 ≙ Fibrinolysegrad

x ≙ davon 1 nicht ausgewertet

( ) ≙ Häufigkeit der Werte

xx ≙ davon 2 nicht ausgewertet

Aus Tabelle 4 ist zu ersehen, daß der Nachweis von fibrinolytischen Aktivitäten in allen drei Gruppen anzutreffen ist.

In den Lungen der untersuchten Mäusebussarde beispielsweise ist der Fibrinolysenachweis in allen drei Gruppen nach drei und vier Stunden positiv. Die absolute Häufigkeit des Auftretens von Fibrinolysegraden 0,5 und 1 in diesen drei Gruppen ist zwar unterschiedlich hoch, dies ist jedoch auf den Umstand zurückzuführen, daß auch die Anzahl der untersuchten Tiere in den verschiedenen Gruppen unterschiedlich hoch ist. So konnten beispielsweise von der Spezies *Buteo buteo* 9 Exemplare mit älteren Frakturen zur Untersuchung herangezogen werden. Tiere mit frischen Frakturen und anderen Krankheitsgeschehen waren jedoch zahlenmäßig in nur sehr geringem Umfang verfügbar.

Ähnliche Verhältnisse finden sich bei der Betrachtung der Venenaktivitäten. Die nicht ganz so gleichmäßige Verteilung läßt sich wiederum auf das zahlenmäßige Ungleichgewicht von untersuchten Tieren zwischen den drei Gruppen zurückführen.

Bei Betrachtung der übrigen aufgeführten Spezies ergeben sich gleiche Verhältnisse wie sie am Beispiel des Mäuse-

bussards dargelegt wurden. Das Ergebnis dieser Betrachtungen führt zu dem Schluß, daß das Krankheitsgeschehen der untersuchten Tiere keinen Einfluß auf die gefundenen fibrinolytischen Aktivitäten in den Geweben hat.

## 5.2. Nachweis von Fibrinolyseinhibitoren

Insgesamt wurden von 21 Vögeln Lungen- und Venengewebsproben auf Aktivitäten von Plasmininhibitoren untersucht.

Im einzelnen waren dies nach systematischer Zugehörigkeit ( WOLTERS 1975 - 1982 ):

ACCIPITRIFORMES ( Greifvögel )

3 Buteo buteo ( Mäusebussard )

STRIGIFORMES ( Eulen )

3 Asio otus ( Waldohreule )

APODIFORMES ( Segler )

3 Apus apus ( Mauersegler )

PSITTACIFORMES ( Papageien )

3 Psittacus erithacus ( Graupapagei )

PASSERIFORMES ( Sperlingsvögel )

3 *Corvus frugilegus* ( Saatkrähe )

COLUMBIFORMES ( Taubenvögel )

3 *Columba livia*, forma urbana ( Satdtttaube )

PHASIANIFORMES ( ( GALLIFORMES ) Hühnervögel )

3 *Gallus gallus* var. dom.

( Weiße Leghornhybriden )

Die mikroskopische Befundung ergab, daß keines der untersuchten Gewebe eine Lysierung der Fibrinfilmes über 70 Minuten hinaus bewirkte. Allen untersuchten Geweben ist dem Auswertungsschema von BLASINI ( 1979 ) zufolge somit der Inhibitionsgrad von 0 zuzuweisen. Dieses Ergebnis besagt, daß die untersuchten Gewebe keinen Plasmininhibitor besitzen.

## 6. DISKUSSION

### 6.1. Methodik

#### 6.1.1. Methode - Fibrinolyse-nachweis

##### 6.1.1.1. Verwendung eines heterologen Systemes zum Nachweis von gewebeständigen Plasminogenaktivatoren

Das in dieser Arbeit zum histotopographischen und quantitativen Nachweis von Plasminogenaktivatoren gewählte Verfahren stellt eine altbewährte Methode zur Untersuchung von Geweben dar, die vom Menschen und anderen Säugern stammen.

Beim Vergleich von Funktionsabläufen biologischer Prozesse im Organismus von Vögeln auf der einen, und Menschen und anderen Säugern auf der anderen Seite, finden sich mannigfaltige Unterschiede. So auch im Ablauf der Blutgerinnung ( ARCHER 1971; NICHELMANN et al. 1973 ) oder im Aufbau von Fibrinogen bzw. Fibrin ( SCHWARTZ et al. 1973; DOOLITTLE 1976 ). Dies führt zwangsläufig zu der Frage, inwieweit die Methode der Fibrinolyseautographie nach TODD ( 1959 ), die mit vom Menschen stammender Fibrinogen- und mit vom Rind stammender Thrombinlösung arbeitet, zum Nachweis von Plasminogenaktivatoren im Gewebe von Vögeln geeignet ist.

In dieser Arbeit wurde zum Nachweis von Plasminogenaktivatoren ein Versuchsaufbau gewählt, bei dem die einzelnen Faktoren, die am Reaktionsablauf der Fibrinolyse beteiligt sind, z. T. von verschiedenen Vogelarten und zum anderen Teil vom Menschen und Rind stammen. In dieser Reaktionskette, an deren Ende die Lysierung des Fibrinfilmes steht, stammt der nachzuweisende Plasminogenaktivator vom Vogel. Das zu aktivierende Plasminogen, das nach seiner Umwandlung zu Plasmin zu einer Lyse des Fibrinfilmes führt, stammt vom Menschen und Rind. Das zur Fibrinfilmerstellung benutzte Fibrinogen stammt vom Menschen, das Thrombin vom Rind.

Trotz dieser unterschiedlichen Herkunft ist jedoch eine Verknüpfung dieser Komponenten möglich:

BELLEVILLE et al. ( 1982 ) benutzten zur Aktivierung von Vogelplasminogen Streptokinase, einen "unphysiologischen" Plasminogenaktivator, der auch bei Säugetieren zu einer Aktivierung von Plasminogen führt ( siehe auch Kapitel 2.1.2. "Fibrinolyse" ). Es gelang auf diesem Wege sowohl menschliches, als auch vom Rind stammendes Fibrin zu lysieren. Dies ist als Beweis dafür anzusehen, daß der Aktivationsmechanismus bei Vögeln und Säugetieren gleicher Art ist.

Für den benutzten Versuchsaufbau bedeutet dies, daß eine Benutzung von Menschen/Rinderfibrinplatten gleichwohl

möglich erscheint, wie die Benutzung von homologen, plasminogenhaltigen Vogelfibrinplatten.

Weiterhin stellen KWAAN und ASTRUP ( 1967 ) folgende Forderungen an einen Fibrinfilm, um eine detaillierte und genaue Lokalisation der Plasminogenaktivatoren stellen zu können:

Der Fibrinfilm muß reich an Plasminogen und arm an Inhibitoren sein. Er soll einen Koagulationsgrad von 85 - 90% erreichen und darf keine spontane Lysisaktivität zeigen. Er soll frei von Citrat und ohne Sedimentbildung sein.

Die verwendeten Fibrinfilme entsprechen diesen Forderungen im besonderen Maße.

#### 6.1.1.2. Auswahl der zu untersuchenden Gewebe

Die Auswahl der zu untersuchenden Gewebe erfolgte nach Maßgabe folgender Kriterien:

Nach Untersuchung von menschlichem und von anderen Säugern stammenden Geweben finden sich erfahrungsgemäß höchste fibrinolytische Aktivitäten im Gewebe von Lunge und Vene ( siehe auch Kapitel 6.2.1. "Fibrinolysenachweis" ), sodaß es nahe lag, auch von verschiedenen Vogel-spezies Lungen- und Venengewebe auf ihre fibrinolytische Aktivität zu untersuchen.

Durch Vorversuche, in die auch Nieren-, Milz- und Ovar-

gewebe von verschiedenen Vogelspezies mit einbezogen wurden, wurden schließlich Lungen-, Venen- und Lebergewebe als für den Untersuchungszweck am geeignetsten befunden.

#### 6.1.1.3. Wahl der Inkubationstemperatur

In der verwendeten Versuchsanordnung werden die angefertigten Präparate bei einer Inkubationstemperatur von 37° C bebrütet. Die normale Körpertemperatur von Vögeln liegt jedoch bei 41 - 42° C.

Ein möglicher Einfluß dieser Temperaturdifferenz auf die Reaktionskinetik der Plasminogenaktivatoren ( und Plasmininhibitoren ) und somit auf die gewonnenen Ergebnisse wird jedoch nur gering sein angesichts der Inkubationsintervalle, die sich bei der Untersuchung von Vogelgewebe in der Größenordnung von Stunden bewegen ( vergleiche hierzu auch Kapitel 6.2.1. "Fibrinolyse nachweis: Mensch und andere Säuger in der Größenordnung von Minuten ).

Weitere Punkte, die für die Verwendung einer Inkubationstemperatur von 37° C sprechen, sind die Vergleichbarkeit der gewonnenen Ergebnisse mit denen der vom Menschen und anderen Säugern, sowie bei Temperaturerhöhung auf 40° C die erhöhte Gefahr der Autolyse von Gewebeschnitt und Fibrinfilmen.

Schließlich erlaubt erst die bei 37° C und mit Rinder/

Menschenfibrinplatten arbeitende Fibrinolyseautographie nach TODD ( 1959 ) einen Rückschluß auf die mögliche Verwendbarkeit von Fibrinklebern ( siehe Kapitel 6.1.1.1.) an Vögeln.

#### 6.1.1.4. Gewinnung von Ergebnissen

Voraussetzung zur Gewinnung von wissenschaftlich - ex - perimentellen verwertbaren Ergebnissen sind standardisierte Bedingungen den Versuchsaufbau und die Auswertung betreffend. Es wurde daher Wert auf Einhaltung folgender Kriterien gelegt:

##### 1. Versuchsaufbau

###### - Konstante Fibrinfilmdicke

Dies wird durch gleichmäßiges und systematisches Schwenken der Objektträger sofort nach Aufbringen der Thrombinlösung auf den Objektträger erreicht. Ein gleichmäßiger Fibrinfilm färbt sich homogen und ohne Schlierenbildung an.

###### - Konstante Fläche der Gewebeschnitte

Die Tiefgefrierschnitte der untersuchten Gewebe müssen bei gleicher Schnittdicke faltenfrei und auf ganzer Fläche auf den Fibrinfilm aufgelegt werden, um eine gleichmäßige Diffusion der Plasminogenaktivatoren in den Fibrinfilm zu gewährleisten.

## 2. Beurteilung

### - Objektivität

Je Gewebeprobe werden vier Tiefgefrierschnitte einer mikroskopischen Beurteilung unterzogen. Ein positiver Befund stellt sich durch gleiche histotopographische Lokalisation in allen vier Gewebeschnitten dar. Positive Befunde nach drei Stunden Inkubationsdauer stellen sich in Gewebeschnitten gleicher Gewebeproben nach vier Stunden Inkubationszeit ebenfalls durch gleiche histotopographische Lokalisation dar.

### - Ausschluß falsch - positiver Befunde

Plasmatische Fibrinolyse wird durch den mikroskopischen Nachweis der Blutleere der Gewebeschnitte ausgeschlossen. Vortäuschung falsch - positiver Ergebnisse durch Verletzung des Fibrinfilmes und Artefakte kann unter dem Mikroskop leicht erkannt werden. Aktivitäten unspezifischer fibrino - proteolytischer Enzyme werden durch den Nachweis negativer Kontrollen ausgeschlossen.

Durch Wahl von längeren Inkubationszeiten als vier Stunden ist theoretisch eine noch deutlichere Darstellung von Plasminogenaktivatoren im Vogelgewebe möglich. Eine solche Maßnahme verbietet sich jedoch durch die Tatsache, daß mit längerwerdenden Inkubationszeiten einer möglichen Autolyse

Vorschub geleistet wird.

### 6.1.2. Methode - Fibrinolyseinhibitorennachweis

Bezüglich der Verwendung von Rinderfibrinogen und -thrombin gelten die gleichen Verhältnisse, wie schon unter Kapitel 6.1.1.1. besprochen.

Zur Gewinnung wissenschaftlich gesicherter Ergebnisse wurde auf Einhaltung folgender Kriterien Wert gelegt:

#### 1. Versuchsaufbau

##### - Konstante Fibrinfilmdicke

Gleichmäßiges und systematisches Schwenken des Objekträgers sofort nach Aufbringen der Thrombinlösung garantiert den Erhalt von einwandfreien Fibrinfilmen, die sich homogen und ohne Schlierenbildung anfärben.

##### - Konstante Fläche der Gewebeschnitte

Die Tiefgefrierschnitte müssen bei gleicher Schnittdicke faltenfrei und auf ganzer Fläche auf den Fibrinfilm aufgelegt werden, um eine gleichmäßige Plasmindiffusion in den Fibrinfilm zu gewährleisten.

#### 2. Beurteilung

##### - Objektivität

Je Gewebeprobe werden zwei Tiefgefrierschnitte auf

ihren Gehalt an Plasmininhibitoren untersucht.

- Ausschluß falsch - negativer Befunde

Die Aktivität gewebeständiger Plasminogenaktivatoren wird durch Verwendung hochgereinigten plasminogenfreien Fibrins ausgeschlossen.

- Ausschluß falsch - positiver Befunde

Anfertigung von Kontrollen, i. e. Auflegen von Plasminscheibchen auf Fibrinfilme ohne darunterliegende Gewebeschnitte.

## 6.2. Ergebnisse

### 6.2.1. Fibrinolyse nachweis

Ein Vergleich von Plasminogenaktivatorgehalten in Geweben von Vögeln auf der einen und Menschen und anderen Säugern auf der anderen Seite erweist sich als schwierig. Von verschiedenen Autoren wird die gleiche Methode, die Fibrinolyseautographie nach TODD ( 1959 ), zur Bestimmung von gewebeständigen Plasminogenaktivatoren benutzt. Jedoch sind die Bewertungssysteme, die zu einer Quantifizierung der Plasminogenaktivatoren herangezogen werden recht verschiedenartig ( SUGIYAMA 1965;

HAUSTEIN 1966; KWAAN und ASTRUP 1967; PANDOLFI 1970 ).

.. Trotzdem kann ein zufriedenstellender Vergleich durch hinzuziehen der verwendeten Inkubationszeiten und durch Auswertung von Bildmaterial angestellt werden.

Ein Vergleich fibrinolytischer Aktivitäten in Lunge, Vene und Leber von Vögeln auf der einen, und Mensch und anderen Säugern auf der anderen Seite stellt sich unter vergleichbaren Untersuchungsbedingungen wie folgt dar:

Lunge:

Fibrinolytische Aktivitäten in der Lunge von Vögeln sind nach frühestens zwei Stunden Inkubationszeit mit einem Lysegrad von 0,5 nachweisbar. SMOKOVITIS und ASTRUP ( 1977 ) weisen fibrinolytische Aktivitäten in Lungengewebschnitten ( 8  $\mu$ m Dicke ) von Ratten und Mäusen nach bereits 10 bzw. 15 Minuten mit einem Lysegrad von 3 nach. Beim Schwein finden sich nach 30 Minuten, beim Meerschweinchen nach 60 Minuten, bei Kaninchen und Rind nach 180 Minuten Lysegrade von 2. KUJAT ( 1976 ) weist an 6  $\mu$ m dicken Gewebeschnitten von Rattenlungen Plasminogenaktivatorgehalte nach, die nach 30 Minuten Inkubationszeit zu Lysegraden auf dem Fibrin-film von 1 - 2, nach 60 Minuten zu Lysegraden von 2, und nach 90 Minuten zu Lysegraden von 3 führen.

#### Venen:

Fibrinolytische Aktivitäten in 10  $\mu$ m dicken Venengewebs-schnitten von Vögeln zeigen sich frühestens nach vier Stunden Inkubationsdauer. Gewebeschnitte menschlicher Venen von 8  $\mu$ m Dicke zeigen nach 10 Minuten Inkubationsdauer Lysegrade auf dem Fibrinfilmm von 2 und nach 25 - 30 Minuten von 2 - 3 ( PANDOLFI 1970 ). Erste sichtbare Lyseerscheinungen auf dem Fibrinfilmm treten nach 5 Minuten auf ( KWAAN und ASTRUP 1967 ). 6 - 8  $\mu$ m dicke Gewebeschnitte von Lungenvenen der Ratte bewirken nach 15 Minuten Inkubationsdauer eine sichtbare Lysis von Fibrinfilmen, was einem Lysegrad von 0,5 entspricht ( RISBERG et al. 1975 ). Erste sichtbare Lysis von Fibrinfilmen zeigen 8  $\mu$ m dicke Venengewebschnitte kleiner Venen aus anderen Körperteilen der Ratte nach 20 Minuten, des Meerschweinchens nach 40 Minuten und des Kaninchens nach 60 Minuten ( KWAAN und ASTRUP 1967 ).

#### Leber:

Übereinstimmend wurden im Lebergewebe von Menschen und anderen Säugetieren ( SPERNOL et al. 1985; SUGIYAMA 1965; TODD 1959 ) keine fibrinolytischen Aktivitäten gefunden. Diese Ergebnisse bestätigen sich auch nach Untersuchung von Lebergewebe von Vögeln in dieser Arbeit.

Aus diesen Erkenntnissen läßt sich ableiten, daß die Konzentration von Plasminogenaktivatoren zwischen verschiedenen Geweben und verschiedenen Spezies sehr stark variiert ( PANDOLFI und ASTRUP 1967 ). Im allgemeinen finden sich im menschlichen Gewebe höhere Konzentrationen an Plasminogenaktivatoren als im Gewebe von Tieren ( ASTRUP 1969 ).

Gemessen am Gehalt von Plasminogenaktivatoren in Lunge und Vene läßt sich unter den untersuchten Tieren folgende Rangfolge aufstellen:

Stärkste fibrinolytische Aktivitäten zeigt die Ratte ( SMOKOVITIS und ASTRUP 1977; ASTRUP et al. 1970; HAUSTEIN 1966 ), gefolgt von Maus, Schwein, Schaf, Affe, Katze, Kuh und Kaninchen ( SMOKOVITIS und ASTRUP 1977; ASTRUP et al. 1970 ), die in dieser Reihenfolge abnehmende gewebeständige fibrinolytische Aktivitäten zeigen. Das Kaninchen, daß im allgemeinen als Tier mit geringen gewebeständigen fibrinolytischen Aktivitäten angesehen wird ( ALBRECHTSEN 1957 (b); ASTRUP et al. 1970 ) steht noch vor den untersuchten Vogelspezies, die in dieser Rangfolge an letzter Stelle einzuordnen sind.

#### 6.2.2. Fibrinolyseinhibitorennachweis

1970 demonstrierten HEDNER et al. an Organen mit hohen

fibrinolytischen Aktivitäten den geringen Gehalt an Fibrinolyseinhibitoren. Auch SMOKOVITIS und ASTRUP ( 1977 ) untersuchten Gewebe verschiedener Tiere auf ihren Gehalt an Plasmininhibitoren. Anhand ihrer Ergebnisse läßt sich unter den untersuchten Tieren eine Rangfolge gemessen am Gehalt der untersuchten Organe an Plasmininhibitoren aufstellen. Sie stellt das genaue Gegenteil der Rangfolge gemessen am Gehalt der untersuchten Organe an Plasminogenaktivatoren dar. So zeigen das Kaninchen und das Rind die höchsten Fibrinolyseinhibitoraktivitäten, gefolgt vom Meerschweinchen, Maus und Ratte.

Die Betrachtung dieser Ergebnisse ließe den Schluß zu, daß bei den untersuchten Vogelarten ähnliche Verhältnisse herrschen, und hohe Plasmininhibitoraktivitäten die Aktivitäten von Plasminogenaktivatoren maskieren. Anhand der in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse ist eine solche Möglichkeit jedoch auszuschließen.

### 6.3. Weiterführende Betrachtungen

Weitere Bedeutung gewinnt die Benutzung von Fibrinplatten, die aus menschlichem Fibrinogen hergestellt werden, sieht man einmal vom Nachweis der gewebeständigen Fibrinolyse bei den verschiedenen Vogelspezies ab.

Die Tatsache, daß aviäres Gewebe in der Lage ist, menschliches Fibrin zu lysieren, ist unabdingbare Voraussetzung für den möglichen Einsatz von handelsüblichem Fibrinkleber, da dieser aus menschlichem Plasma gewonnen wird ( SCHEELE 1984 ).

Dieser in der Weise eines Zweikomponentenklebers gebrauchte Gewebekleber nutzt die biochemischen Gegebenheiten der letzten Phase der Blutgerinnung, i. e. die Umwandlung von löslichem Fibrinogen in unlösliches Fibrin. Er enthält in einer Komponente als Hauptbestandteil Fibrinogen und in einer zweiten Komponente als Härter Thrombin.

Hauptsächlich in der Humanmedizin gebräuchlich, findet er bevorzugt bei der chirurgischen Versorgung von Organen Anwendung, bei denen sich die Anwendung von Nahttechniken durch die Eigenschaften ihrer Gewebe verbietet, wie beispielsweise Milz, Leber, Gehirn und Nerven.

Selbst wenn man die Tatsache in Betracht zieht, daß die fibrinolytischen Aktivitäten im Gewebe von Vögeln nur gering sind, scheint eine Anwendung auch beim Vogel möglich. Dies, zumal der Fibrinkleber in seiner Anwendung als sehr, sehr dünner Film aufgesprüht werden soll.

Mögliche Anwendungsbereiche bei Vögeln wären die Ab-

deckung von großflächigen Hautdefekten oder die Versorgung von Sohlenballenabszessen.

Der Krankheitsbegriff des Sohlenballenabszesses, auch "dicke Hände" genannt, bezeichnet ein Krankheitsgeschehen an der Fußhaut von Vögeln, das durch zwei für Vögel typische Vorgänge gekennzeichnet ist ( GERLACH 1982 ).

Nach einer, beispielsweise durch unpassende Sitzgelegenheiten hervorgerufenen Verletzung der Fußhaut, findet im Gegensatz zum Säugetier kein sichtbarer Abbau von Wundschorf durch Fibrinolyse statt. An diesen Wundschorf wird im Gegenteil noch gerinnendes Wundsekret angelagert. Dies führt zu einer Drucknekrose der bei Vögeln schon von Natur aus schwachen Granulationsgewebsbildung.

Zum anderen bildet die Epidermis zwar Epithelgenerationen, diese jedoch finden keinen Zusammenhang mit dem Granulationsgewebe. Zwischen Epithel und Granulationsgewebe befindliche Wundsekretpfropfe, die infiziert sind, führen zum klinischen Bild des Sohlenballenabszesses. Es bildet sich ein Eiterpfropf, der weder wie beim Säuger abfließt, noch eintrocknet, sondern einen echten Gerinnungsvorgang durchmacht.

Anhand des "Krankheitskomplexes Sohlenballenabszeß"

wird deutlich, welch tiefgreifende Folgen die bei den untersuchten Vogelspezies nur schwach ausgeprägte fibrinolytische Aktivität auf verschiedene Wundheilungsgeschehen haben muß.

Diesen Umständen wird in der Klinik durch Verwendung sogenannter "Antigerinnungslösungen" Rechnung getragen. Diese beinhalten u. a. Substanzen, die eine Gerinnung verhindern, bzw. abschwächen sollen, und auf der anderen Seite zur Unterstützung von fibrinolytischen Vorgängen beitragen sollen ( beispielsweise Heparin zur Verhinderung von Gerinnungsvorgängen und Fibrinolysin oder Leukasekegel<sup>R</sup> ( Trypsin ) zur Auflösung von Fibrin ).

Hier bietet sich auch die Verwendung von Fibrinklebern an, da diese ( evtl. in Verbindung mit Collagenfliesen ) granulationsfördernde Eigenschaften besitzen und durch Abdeckung der Wundstelle das weitere Eindringen von Keimen verhindern ( SCHEELE 1984 ).

Jedoch sind über bereits erfolgte Pilotstudien hinausgehende Untersuchungen vonnöten, die neue Möglichkeiten zur Behandlung von Wundheilungsgeschehen bei Vögeln eröffnen sollen.

## 7. ZUSAMMENFASSUNG

Zur Feststellung von fibrinolytischen Aktivitäten und Fibrinolyseinhibitoren bei verschiedenen Vogelspezies werden von 93 Vögeln, die 10 Ordnungen repräsentieren, die Gehalte an Plasminogenaktivatoren und Plasmininhibitoren im Lungen-, Venen- und z. T. Lebergewebe ermittelt.

Fibrinolytische Aktivitäten finden sich im Lungen- und Venengewebe von Vögeln, die die Ordnung ACCIPITRIFORMES ( Greifvögel ) repräsentieren, sowie im Lungengewebe der Spezies *Apus apus* ( Mauersegler ), die zur Ordnung APODIFORMES ( Segler ) gehört. In der Ordnung STRIGIFORMES ( Eulen ) finden sich je nach Spezies unterschiedliche Ergebnisse.

Keine fibrinolytischen Aktivitäten finden sich in den untersuchten Geweben aller Vögel, die die Ordnungen FALCONIFORMES, PSITTACIFORMES, PASSERIFORMES, COLUMBIFORMES, PHASIANIFORMES ( GALLIFORMES ), LARIFORMES, und ANATIFORMES ( ANSERIFORMES ) repräsentieren, sowie generell im Lebergewebe.

Fibrinolyseinhibitoren konnten in keinem Falle nachgewiesen werden.

Die Verwendung eines heterologen Systemes zur Bestimmung der Plasminogenaktivatoren und Plasmininhibitoren wird diskutiert. Desweiteren werden die beim Vogel ermittelten Ergebnisse mit den Verhältnissen, wie sie beim Menschen und anderen Säugern vorzufinden sind, verglichen.

## 8. SUMMARY

Studies on the tissue type system of fibrinolysis of several species of birds: Activator of plasminogen and inhibitor of plasmin.

For the estimation of fibrinolytic activities and fibrinolytic inhibitors in the organism of some birdspecies, the contents of plasminogenactivator and plasmininhibitor in different tissues ( lung, vein and liver ) taken from birds, representing 10 orders was determind.

Fibrinolytic activities were found in lung and vein tissue of birds, representing the order ACCIPITRIFORMES ( griffins ) as well as in the lung tissue of the species *Apus apus* ( common swift ), which belongs to the order APODIFORMES ( swifts ). The species belonging to the order STRIGIFORMES ( owls ) however showed varying results.

No fibrinolytic activities were found in the examined tissues of birds, representing the orders FALCONIFORMES, PSITTACIFORMES, PASSERIFORMES, COLUMBIFORMES, PHASIANIFORMES ( GALLIFORMES ), LARIFORMES, and ANATIFORMES ( ANSERIFORMES ). Liver tissue never showed any fibrinolytic activity.

No tissue type inhibitors of plasmin were found in any examined tissues.

The use of a heterologous system for the estimation of fibrinolytic activities and fibrinolytic inhibitors is discussed. The described results from birds are compared with the instances found in the tissues of human and mammals.

## 9. RESUMEN

Estudio del Sistema Fibrinolítico Tisular en diferentes especies de aves: Activador del Plasminógeno e Inhibidor de la Plasmina.

Para estimar la actividad fibrinolítica y los inhibidores del sistema fibrinolítico en el organismo de las aves, fueron evaluados los niveles del activador del plasminógeno y del inhibidor de la plasmina en diversos tejidos de aves ( pulmón, venas e hígado ). Para esto se utilizaron 93 aves de 10 Ordenes diferentes. Se encontró actividad del sistema fibrinolítico tisular en pulmones y venas de aves del Orden ACCIPITRIFORMES, así también como en pulmones de la Especie *Apus apus* ( vencejo común ), la cual pertenece al Orden AFODIFORMES. Las especies del Orden STRIGIFORMES mostraron resultados variables.

Ninguna actividad fibrinolítica fue encontrada en aves de los otros 7 Ordenes restantes estudiados ( FALCONIFORMES, PSITTACIFORMES, PASSERIFORMES, COLUMBIFORMES, PHASIANIFORMES ( GALLIFORMES ), LARIFORMES y ANATIFORMES ( ANSERIFORMES ) ). En ninguno de los casos examinados, el tejido hepático mostró actividad fibrinolítica.

Asimismo, ningún inhibidor del sistema fibrinolítico tisular fue encontrado.

Para evaluar la actividad fibrinolítica tisular y sus in-

híbridos, está en estudio el uso de un sistema heterólogo de estimación. Los resultados descritos obtenidos en las aves, son comparados con aquellos obtenidos en tejidos humanos y de otros mamíferos.

## 8. LITERATURVERZEICHNIS

- AHMAD, N.; DUBE, B.; AGARWAL, G. P.; DUBE, R. ( 1980 ): Fibrinolysis in the pigeon ( *Columba livia* ). *Thrombos. Haemostas.* 42, 955 - 958
- ALBRECHTSEN, O. K. ( 1957 (a) ): The fibrinolytic activity of human tissues. *Brit. J. Haemat.* 3, 284 - 288
- ALBRECHTSEN, O. K. ( 1957 (b) ): The fibrinolytic activity of animal tissues. *Acta Physiol. Scand.* 39, 284 - 290
- ALI, S. Y.; LACK, C. H. ( 1965 ): Studies on the tissue activator of plasminogen. *Biochem. J.* 96, 63
- ALLEN, B. V. ( 1972 ): Fibrinolysis in the domestic chicken ( *Gallus domesticus* ). *Thromb. Diath. Haem.* 27, 646 - 648
- ALLEN, R. A.; PEPPER, D. S. ( 1981 ): Isolation and properties of human vascular plasminogen activator. *Thrombos. Haemostas.* 45, 43 - 50
- AMBRUS, C. M.; WEINTRAUB, D. H.; NISWANDER, K. R.; AMBRUS, J. L. ( 1965 ): Studies on hyaline membrane disease II. The ontogenesis of fibrinolysin system. *Pediatrics* 35, 91 - 96
- AMBRUS, C. M. ( 1966 ): Ontogeny of fibrinolysin system and its role in pathogenesis of hyaline membrane disease of infants. *Fed. Proc.* 25, 68 - 72

- AMBRUS, C. M.; AMBRUS, J. L.; KAWINSKI, W. ( 1971 ): Effect of estrogens on tissue plasminogen activators and their inhibitors.  
J. Med. 2, 387 - 394
- ARCHER, R. K. ( 1971 ): Blood coagulation  
in: Physiology and biochemistry of the domestic fowl, Vol. II; D. J. Bell, B. M. Freeman ( Eds. ), Academic Press, London/ New York; 897 - 911
- ARNOLD, H. W. ( 1981 ): Über den Einfluß von Corticosteroiden auf die fibrinolytische Aktivität verschiedener Gewebe des Auges.  
Albrecht von Graefes Arch. Klin. Ophtalmolog. 216, 77 - 84
- ASTEDT, B.; PANDOLFI, M. ( 1971 ): Ontogenesis of tissue plasminogen activator in the human.  
Thromb. Diath. Haemorrh. 25, 469 - 480
- ASTEDT, B. ( 1975 ): Fibrinolysis in cultured cells.  
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 34, 644 - 647
- ASTRUP, T. ( 1952 ): Ox lung tissue as a proteolytic inhibitor.  
Acta Physiol. Scand. 26, 243 - 251
- ASTRUP, T.; MÜLLERTZ, S. ( 1952 ): The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity.  
Archiv Biochem. Biophys. 40, 346
- ASTRUP, T. ( 1956 (a) ): The biological significance of fibrinolysis.  
Lancet II, 565 - 568

- ASTRUP, T. ( 1956 (b) ): Fibrinolysis in the organism.  
Blood 11, 781 - 806
- ASTRUP, T.; ALBRECHTSEN, O. K. ( 1957 ): Estimation of  
the plasminogen activator and the trypsin inhibitor in animal and human tissues.  
Scand. J. Clin. Invest. 9, 233 - 243
- ASTRUP, T. ( 1959 ): Die Bedeutung der Fibrinolyse.  
in: Medizinische Grundlagenforschung, Bd. II;  
K. Fr. Bauer ( Hrsg. ); G. Thieme, Stuttgart
- ASTRUP, T.; BULUK, K. ( 1963 ): Thromboplastic and fibrinolytic activities in vessels of animals.  
Circulation Res. 13, 253 - 260
- ASTRUP, T. ( 1966 ): Tissue activators of plasminogen  
Fed. Proc. 25, 42 - 51
- ASTRUP, T.; HENRICHSSEN, J.; TYMPANIDIS, K.; KING, A. D.  
( 1967 ): Fibrinolytically active vaginal epithel cells.  
Nature 214, 297
- ASTRUP, T. ( 1968 (a) ): Comparative studies of some anti-fibrinolytic agents and proteinase inhibitors.  
Ann. NY. Acad. Sci. 146, 601 - 611
- ASTRUP, T. ( 1968 (b) ): Blood coagulation and fibrinolysis in tissue culture and tissue repair.  
in: Biochemical pharmacology; Pergamon Press, London; 241 - 257
- ASTRUP, T.; GLAS, P.; KOK, P. ( 1968 ): Lung fibrinolytic activity and bovine high mountain disease.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127, 373 - 377

- BELLEVILLE, J.; CORNILLON, B.; PAUL, J.; BAGUET, J.;  
GLENDINNEN, G.; ELOY, R. ( 1982 ): Haemostasis,  
blood coagulation and fibrinolysis in the  
japanese quail.  
Comp. Biochem. Physiol. 71, 219 - 230
- BENZER, H.; BLÜMEL, G.; PIZA, F. ( 1966 ): Experimentelle  
Untersuchungen zur Biologie der Gefäßwand.  
Med. Welt 17, 1361 - 1365
- BERNIK, M. B.; KWAAN, H. C. ( 1969 ): Plasminogenactiva-  
tor activity in cultures from human tissues. An  
immunological and histological study.  
J. Clin. Invest. 48, 1740 - 1753
- BIGLAND, C. H. ( 1964 ): Blood clotting time of five  
avian species.  
Poultry Scie. 43, 1035
- BLASINI, R. ( 1979 ): Eine neue Methode zur quantita-  
tiven Bestimmung histotopographisch nachweis-  
barer Inhibitoren gegen Plasmin.  
Med. Diss. München
- BLIX, S. ( 1962 ): The proactivator of the fibrinolytic  
system in human plasma.  
Acta Med. Scand. 386, 1 - 24
- BLÜMEL, G. ( 1969 ): Biologische Aktivitäten im Fraktur-  
haematom.  
Langenbecks Arch. Chir. 327, 263 - 265
- BOOTH, N. A.; ANDERSON, J. A.; BENETT, B. ( 1985 ): The  
plasma inhibitors of plasminogen acitivator

studied by a zymographic technique  
Thrombos. Res. 38, 261

BÜTTNER, D.; SCHMIDT, F. C. ( 1972 ): Über die fibrinolytische Aktivität der Venenwand  
Vasa 1, 24 - 28

CAMPARY, R.; STRICKLAND, S. ( 1985 ): Plasminogenactivator in the rat ovary. Production and gonadotropin regulation of the enzyme in granulosa and theca cells.  
J. Biol. Chem. 260, 8

CASH, J. D. ( 1978 ): Control mechanism of activator release. in: Progress in chemical fibrinolysis and thrombolysis, Vol. 3; J. D. Davidson, R. M. Rowan, M. M. Samama, P. C. Desnoyers ( Eds. ); Raven Press, New York; 65 - 75

CAUGHEY, D. E.; HIGHTON, T. C. ( 1967 ): Components of the fibrinolytic system in synovial joints.  
Ann. Rheum. Dis. 26, 297 - 305

CHAKRABARTI, R.; BIRKS, P. M.; FEARNLEY, G. R. ( 1963 ): Origin of blood fibrinolytic activity from veins.  
Lancet I, 1288

CHRISTENSEN, U.; CLEMMENSEN, I. ( 1977 ): Kinetic properties of the primary inhibitor of plasmin from human plasma.  
Biochem. J. 163, 389 - 391

CHRISTMAN, J. K.; SILVERSTEIN, S. C.; ACS, G. ( 1977 ): Plasminogenactivators.

- ASTRUP, T. ( 1969 ): Fibrinolytic mechanism in man and animals.  
in: Dynamics of thrombus formation and dissolution; S. A. Johnson, M. M. Guest ( Eds. );  
Lippincott, Philadelphia; 275 - 306
- ASTRUP, T.; GLAS, P.; KOK, P. ( 1970 ): Thromboplastic and fibrinolytic activity in lungs of some animals.  
Lab. Invest. 22, 381 - 386
- ASTRUP, T. ( 1975 ): Cell induced fibrinolysis. A fundamental process.  
in: Proteases and biological control, Cold Spring Harbor conferences on cell proliferation; E. Reich, D. B. Rifkin, E. Shaw ( Eds. ); Cold Spring Harbor Laboratory
- AZNAR, J.; HERNANDEZ, A.; PARILLA, J. J., ESTELLES, A.; GILBERT, J. ( 1976 ): Changes in human amniotic fluid fibrinolytic inhibitor levels during pregnancy.  
Thrombos. Haemostas. 35, 382 - 385
- BARNETT, E. V.; BARON, S. ( 1959 ): On fibrinolysis in human tissues.  
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 102, 308
- BANG, N. U. ( 1971 ): Physiology and biochemistry of fibrinolysis.  
in: Thrombosis and bleeding disorders; N. U. Bang, F. K. Beller, E. Deutsch, E. F. Mammen ( Eds. );  
G. Thieme, Stuttgart und Academic Press, NY/ London
- BEARD, E. L. ( 1968 ): Plasminogen activator activity of rat lysosomes.  
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 129, 804

in: Proteinases in mammalian cells and tissues;  
A. J. Barrett ( Ed. ); Netherland Elsevier, North  
Holland, Amsterdam; 120 - 121

COCCHERI, S.; ASTRUP, T. ( 1961 ): Thromboplastic and  
fibrinolytic activities of large human vessels.  
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 108, 369 - 372

COLLEN, D. ( 1976 ): Identification and some properties of  
a new fast - reacting plasmininhibitor in human  
plasma.  
Eur. J. Biochem. 69, 209 - 216

CONSTANTINI, R.; HILBE, G.; HOLZKNECHT, F.; ASCHAUER, R.  
( 1973 ): The effect of experimental arterial  
occlusion on the plasminogen tissue activator in  
rabbits.  
Angiology 24, 603 - 605

DOOLITTLE, R. F. ( 1976 ): The evolution of vertebrate  
fibrinogen.  
Fed. Proc. 35, 2145 - 2149

DOUGLAS, A. S.; OGSTON, D. ( 1972 ): Clinical physiology of  
the fibrinolytic enzyme system.  
J. Clin. Pathol. 25, 615 - 618

FEARNLEY, G. R. ( 1964 ): Physiology and pharmacology of  
fibrinolysis.  
Br. Med. Bull. 20, 185 - 188

FISCHER, S.; ALBRECHTSEN, O. K.; BANG, N. U. ( 1959 ):  
Fibrinolytic activator, glutamic oxalacetic trans-  
aminase and potassium in myocardial tissue at

various stages of human myocardial infarction.  
Thromb. Diath. Haemorrh. 3, 554 - 565

FLEISHER, M. S.; LOEB, L. ( 1915 ): On tissue fibrinolysis.  
J. Biol. Chem. 21, 477 - 501

GERLACH, CHRISTA ( 1982 ): Erfahrungen und neue Versuche bei  
Heilung der Vogelhaut und der dicken Hände bei  
Greifvögeln.  
Der praktische Tierarzt 5/1982, 440 - 444

GOOGNIGHT jr., S. H. ( 1975 ): Disseminated intravascular  
coagulation: proteases and pathology.  
in: Proateases and biological control, Cold Spring  
Harbor conferences on cell proliferation, Vol. 2;  
E. Reich, D. B. Rifkin, E. Shaw ( Eds. ); Cold  
Spring Harbor Laboratory

HABERLAND, G. L.; MATIS, P. ( 1967 ): Trasylol, ein Prote-  
aseninhibitor bei chirurgischen und internen Indi-  
kationen.  
Med. Welt 22, 1367 - 1376

HARMS, D.; BUSS, G.; HEIMBURGER, N.; PAPE, G. R. ( 1975 ):  
Experimentelle Untersuchungen zur Auflösung von  
pulmonalen hyalinen Membranen in vitro.  
Klin. Wochenschrift 53, 1147 - 1153

HAUSTEIN, U. F. ( 1966 ): Die Lokalisation der fibrinolyti-  
schen Aktivität in der Haut.  
Arch. Klin. Exp. Derm. 226, 83

HAWKEY, C. M. ( 1970 ): The haemostatic mechanisms in man  
and other animals.  
Zool. Soc. London, Symposia 27, 133

- HEALY, G. M.; PARKER, R. C. ( 1966 ): Cultivation of mammalian cells in defined media with protein and nonprotein supplements.  
J. Cell. Biol. 30, 539 - 553 .
- HEDNER, U.; NILSSON, I. M.; JACOBSEN, C. D. ( 1970 ): Demonstration of low content of fibrinolytic inhibitors in individuals with high fibrinolytic capacity.  
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 25, 329 - 336
- HEIMBURGER, N. ( 1974 ): Biochemistry of proteinase inhibitors from human plasma: a review of recent development.  
in: Bayer Symposium V, Proteinase Inhibitors; H. Fritz, H. Tschesche, L. J. Greene, E. Truscheit ( Hrsg. ); Springer: Berlin, Heidelberg, New York
- HEIMBURGER, N. ( 1975 ): Proteinase inhibitors of human plasma - Their properties and control functions.  
in: Proteases and biological control, Cold Spring Harbor conferences on cell proliferation; E. Reich, D. B. Rifkin, E. Shaw ( Eds. ); Cold Spring Harbor Laboratory
- HIJIKATA, A.; FUJIMOTO, K.; KITAGUCHI, H.; OKAMOTO, S. ( 1974 ): Some properties of the tissue plasminogen activator from the pig heart.  
Thromb. Res. 4, 731 - 740
- HOCHSTRASSER, K.; REICHERT, R.; MATZNER, M. ( 1972 ): Hemmbarkeit proteolytischer Enzyme in pathologischen Nasensekreten und von Leukozytenproteasen durch

den natürlichen Proteaseninhibitor des Nasensekrets.

Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem. 10, 104 - 107

HOCHSTRASSER, K.; FEUTH, H.; HOCHGESAND, K. ( 1974 ): Proteinase inhibitors of the respiratory tract: studies on the structural relationship between acid - stable inhibitors present in the respiratory tract, plasma and urine.  
in: Bayer Symposium V, Proteinase Inhibitors; H. Fritz, H. Tschesche, L. J. Greene, E. Truscheit ( Hrsg. ); Springer: Berlin, Heidelberg, New York

HODGES, R. D. ( 1977 ): Normal avian ( poultry ) haematology.  
in: Comparative clinical haematology; R. K. Archer, L. B. Jeffcott, H. Lehmann ( Eds. ); Blackwell Scientific Publ., Oxford, London, Edinburgh, Melbourne; 502

HOLEMANS, R.; SILVER, M. J. ( 1969 ): The blood fibrinolytic system.  
in: Dynamics of thrombus formation and dissolution; S. A. Johnson, M. M. Guest ( Eds. ); J. B. Lippincott, Philadelphia - Toronto

HOYLEARTS, M.; LIJNEN, H. R.; COLLEN, D. ( 1981 ): Studies on the mechanism of the antifibrinolytic action of the transexamic acid.  
Biochim. Biophys. Acta 673, 75 - 85

HOYLEARTS, M.; RIJKEN, D. C.; LIJNEN, H. R.; COLLEN, D. ( 1982 ): Kinetics of the activation of plasmino-

gen by human tissue plasminogen activator. The role of fibrin.

J. Biol. Chem. 257, 2912 - 2919

ISACSON, S.; NILSSON, I. M. ( 1972 ): Defective fibrinolysis in blood and vein walls in recurrent "idiopathic" venous thrombosis.

Acta Chir. Scand. 138, 313 - 319

KOK, D.; ASTRUP, T. ( 1969 ): Isolation and purification of a tissue plasminogen activator and its comparison with urokinase.

Biochemistry 8, 79 - 86

KOLLER, F. ( 1969 ): Zur Physiologie der Fibrinolyse.

in: Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse; V. Hiemeyer ( Hrsg. ); Schattauer, Stuttg., New York

KOWALSKI, E.; BUDZYNSKI, A. Z.; KOPEC, M.; LATALLO, Z. S.; LIPINSKI, B.; WEGRYNOWICZ, Z. ( 1965 ): Circulating fibrinogen degradation products ( FDP ) in dog blood after intravenous thrombus infusion.

Thromb. Diath. Haemorrh. 13, 12 - 24

KRUIITHOF, E. K.; BACHMANN, F. ( 1982 ): Studies on the binding of tissue plasminogen activator to fibrinogen and fibrin.

in: Fibrinogen. Recent biochemical and medical aspects; A. Henschen, G. H. Graeff, F. Lottspeich; Walter de Gruyter, Berlin, New York

KUJAT, R. ( 1976 ): Untersuchungen über die Aktivität gewebeständiger Plasminogenaktivatoren nach Appli-

kation von natürlichen und synthetischen Proteinase - Inhibitoren.

Med. Diss. TU München

KWAAN, H. C.; MC FADZEAN, A. J. S. ( 1956 ): On plasma fibrinolytic activity induced by ischaemia.  
Clin. Sci. 15, 245 - 257

KWAAN, H. C.; ASTRUP, T. ( 1963 ): Localisation of fibrinolytic activity in the eye.  
Arch. Path. 76, 595 - 601

KWAAN, H. C.; ASTRUP, T. ( 1964 ): Fibrinolytic activity of reparative connective tissue.  
J. Path. Bact. 87, 409 - 414

KWAAN, H. C.; ASTRUP, T. ( 1967 ): Demonstration of cellular fibrinolytic activity by the histochemical fibrin slide technique.  
Lab. Invest. 17, 140 - 145

KWAAN, H. C. ( 1969 ): Endothelial fibrinolytic activity in the prevention and resolution of thrombosis. in: Dynamics of thrombosis formation and dissolution; S. A. Johnson, M. M. Guest ( Eds. ); J. B. Lippincott, Philadelphia - Toronto

KWAAN, H. C.; ASTRUP, T. ( 1969 ): Tissue repair in presence of locally applied inhibitors of fibrinolysis  
Experiment. Mole. Path. 11, 82 - 88

KWAAN, H. C. ( 1973 ): Inhibitors of fibrinolysis.  
Thromb. Res. 2, 31 - 40

LACK, C. H.; ALI, S. Y. ( 1964 ): Tissue activator of

plasminogen.  
Nature 201, 1030

LAKI, K.; LORAND, L. ( 1948 ): On the solubility of fibrin clots.  
Science 108, 280

LASCH, H. G.; HEENE, D. L.; HUTH, K.; SANDRITTER, W. ( 1967 ): Pathophysiology, clinical manifestations and therapy of consumption coagulopathy ( "Verbrauchskoagulopathie" ).  
Am. J. Cardiol. 20, 381 - 391

LAUG, W. E.; TOKES, Z. A.; BENEDICT, W. F.; SORGENTE, N. ( 1980 ): Anchorage independent growth and plasminogen activator production by bovine endothelial cells.  
J. Cell. Biol. 84, 281 - 293

LAUG, W. E. ( 1981 ): Secretion of plasminogen activators by cultured bovine endothelial cells: Partial purification, characterisation and evidence for multiple forms.  
Thromb. Haemostas. 45, 219 - 224

LAUG, W. E. ( 1983 ): Glucocorticoids inhibit plasminogen-activator production by endothelial cells.  
Thromb. Haemostas. 50, 888 - 892

LAUG, W. E. ( 1985 ): Vascular smooth muscle cells inhibit the plasminogen activators secreted by endothelial cells.  
Thromb. Haemostas. 53, 165

LEVIN, E. G.; LOSKUTOFF, D. J. ( 1982 ): Cultured bovine

endothelial cells produce both urokinase and tissue - type plasminogen - activators.

J. Cell. Biol. 94, 631 - 636

LIEBERMANN, J. ( 1960 ): The nature of the fibrinolytic enzyme defect in hyaline menbrane disease.

New Engl. J. Med. 262, 999 - 1004

LIEBERMANN, J.; GAWAD, M. A. ( 1971 ): Inhibitors and activators of leukocytic proteases in purulent sputum.

J. Lab. Clin. Med. 77, 713 - 727

LIJNEN, H. R.; COLLEN, D. ( 1983 ): Molecular mechanism of fibrinolysis.

in: Fibrinolytic therapy; G. Trübestein, F. Etzel ( Eds. ); F. K. Schattauer, Stuttg./NY

LORAND, L.; JACOBSEN, A. ( 1958 ): Studies on the polymerisation of fibrin. The role of the globulin: Fibrin - stabilizing factor.

J. Biol. Chem. 230, 421 - 434

LORAND, L. ( 1975 ): Controls in the clotting of fibrinogen.

in: Proteases and biological control, Cold Spring Harbor conferences on cell proliferation Vol. 2; E. Reich, D. B. Rifkin, E. Shaw ( Eds. ); Cold Spring Harbor Laboratory

MAHMOUD, M.; GAFFNEY, P. J. ( 1985 ): Bioimmunesay ( BIA ) of tissue plasminogen activator ( t - PA ) and its specific inhibitor ( t - PA/INH ).

Thromb. Haemostas. 53, 3

- MARKWARDT, F.; KLOCKING, H. P. ( 1976 ): Studies on the release of plasminogen activator.  
Thromb. Res. 8, 217 - 223
- MATTSON, C.; NYBERG - ARRHENIUS, V.; WALLÉN, P. ( 1981 ): Dissolution of thrombin by tissue plasminogen activator, urokinase and streptokinase in an artificial circulating system.  
Thromb. Res. 21, 535 - 545
- MC NICOL, G. P.; DOUGLAS, A. S. ( 1964 ): Epsilon - Amino-caproic acid and other inhibitors of fibrinolysis.  
Brit. Med. Bull. 20, 233 - 239
- MC NICOL, G. P.; DOUGLAS, A. S. ( 1976 ): The fibrinolytic enzyme system.  
in: Human blood coagulation, haemostasis and thrombosis; R. Biggs ( sec. Ed. ); Blackwell Scientific Publ., London; 399 - 435
- MENON, I. S.; DEWAR, H. A. ( 1967 ): Fibrinolysin factors in tissue.  
First international symposium of tissue factors in homeostasis of the coagulation - fibrinolysis system, Florence; 301 - 311
- MENON, D. S.; DEWAR, H. A.; NEWELL, D. J. ( 1968 ): Role of the kidney in fibrinolytic activity of blood.  
Lancet II, 785 - 791
- MENON, I. S.; DEWAR, H. A. ( 1970 ): VI th international conference on microcirculation, Aalborg, Denmark; 34 - 42
- MENON, I. S.; BARRON, S. L.; WEIGHTMAN, D.; DEWAR, H. A.

- ( 1970 (a) ): The uterus as contributor of plasminogen activator to the blood.  
J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwth. 77, 591 - 593
- MENON, I. S.; MUSCAT - BARON, J.; WEIGHTMAN, D.; DEWAR, H. A. ( 1970 (b) ): The brain as contributor of plasminogen activator in the blood.  
Clin. Sci. 38, 85 - 89
- MESSER, D. L.; CELANDER, D. R.; GUEST, M. M. ( 1962 ): Stability of fibrin contiguous to intima of veins.  
Circulat. Res. 2, 832 - 835
- MOROI, M.; AOKI, N. ( 1976 ): Isolation and characterisation of  $\alpha_2$  - plasmin inhibitor from human plasma. A novel proteinase inhibitor, which inhibits activator - induced clot lysins.  
J. Biol. Chem. 251, 5956 - 5965
- MÜLLERTZ, S.; CLEMMENSEN, I. ( 1976 ): The primary inhibitor of plasmin in human plasma.  
Biochem. J. 159, 545 - 553
- MÜLLERTZ, S. ( 1978 (a) ): Role of  $\alpha_2$  - Macroglobulin as an inhibitor of fibrinolysis.  
in: The physiological inhibitors of blood coagulation and fibrinolysis; D. Collen, B. Wiman, M. Verstraete ( Eds. ); Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford; 239 - 245
- MÜLLERTZ, S. ( 1978 (b) ): Mechanism of the activation and effect of plasmin in blood.

Acta Physiol. Scand. 38, 130

MÜLLERTZ, S. ( 1978 (c) ): Natural inhibitors of fibrinolysis.

in: Progress in chemical fibrinolysis and thrombolysis, Vol. 3; J. F. Davidson, R. M. Rowan, M. M. Samama, P. C. Desnoyers ( Eds. ); Raven Press, New York; 213 - 273

MYHRE - JENSEN, O.; BERGMANN - LARSEN, S.; ASTRUP, T. ( 1969 )  
Fibrinolytic activity in serosal and synovial membranes.

Arch. Path. 88, 623 - 630

MYHRE - JENSEN, O. ( 1971 ): Localisation of fibrinolytic activity in the kidney and urinary tract of rats and rabbits.

Lab. Invest. 25, 408 - 411

NICHELMANN, M.; ZIEDLER, K.; MARX, C.; ROTT, M. ( 1974 ): Besonderheiten bei der Blutgerinnung des Geflügels.

Monatshefte für Veterinärmedizin, 29. Jahrgang,

4, 149 - 153

NIEWIAROWSKI, S.; LATALLO, Z. ( 1959 ): Comparative studies of the fibrinolytic system of sera of various vertebrates.

Thromb. Diath. Haemorrh. 3, 404 - 417

NILSSON, I. M. ( 1969 ): Fibrinolytic activity of human veins.

in: Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse; V. Hiemeyer ( Hrsg. ); F. K. Schattauer, Stuttg.

NILSSON, I. M.; PANDOLFI, M. ( 1970 ): Fibrinolytic response of the vascular wall.

Thromb. Diath. Haemorrh. 40, 231 - 242

NIRMALAN, G. P. ( 1971 ): Haematology of the japanese quail ( *Coturnix japonica* )

Brit. Poultry Sci. 12, 475

NISHIOKA, K.; RYAN, T. J. ( 1971 ): Inhibitors and pro-activators of fibrinolysis in human epidermis

Br. J. Derm. 85, 561 - 565

NOORDHOEK - HEGT, V.; BRAKMAN, P. ( 1973 ): Histochemical study of an inhibitor of fibrinolysis in the human arterial wall by a modified fibrin slide technique.

Abstr. 4th Int. Congr. on Thrombosis and Haemostasis, Vienna; 457

NOORDHOEK - HEGT, V.; BRAKMAN, P. ( 1974 (a) ): Histochemical study of an inhibitor of fibrinolysis in the human arterial wall.

Nature 248, 75 - 76

NOORDHOEK - HEGT, V.; BRAKMAN, P. ( 1974 (b) ): Inhibition of fibrinolysis by the human vascular wall related to the presence of smooth muscle cells.

Haemostasis 3, 118 - 128

NOORDHOEK - HEGT, V.; BRAKMAN, P. ( 1975 ): Histochemical demonstration of inhibition of fibrinolysis in human tissue by means of the fibrin slide sandwich technique.

in: Progress in chemical fibrinolysis and thrombolysis, Vol. 1; J. F. Davidson, M. M. Samama,

P. C. Desnoyers ( Eds. ); Raven Press, New York

NOORDHOEK - HEGT, V. ( 1975 ): Endothelial and smooth muscle cells as antagonists in vascular fibrinolysis.

Thromb. Diath. Haemorrh. 34, 608

NOORDHOEK - HEGT, V. ( 1977 ): Relations between activation and inhibition of fibrinolysis in the walls of human arterial and veins.

Thrombos. Haemostas. 38, 407 - 419

PANDOLFI, M.; COCCHERI, S.; ASTRUP, T. ( 1962 ): Thromboplastic and fibrinolytic activities in tissues of the eye.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 109, 159 - 161

PANDOLFI, M.; NILSSON, I. M.; ROBERTSON, B.; ISAACSON, S. ( 1967 ): Fibrinolytic activity of human veins. Lancet II, 127

PANDOLFI, M.; ASTRUP, T. ( 1967 ): A histochemical study of the fibrinolytic activity.

Arch. Ophtal. 77, 258 - 264

PANDOLFI, M.; ISAACSON, S.; NILSSON, I. M. ( 1969 ): Low fibrinolytic activity in the walls of veins in patient with thrombosis.

Acta Med. Scand. 186, 1

PANDOLFI, M. ( 1969 ): Studies on fibrinolysis in some tissues and in aqueous tumor.

Habilitationschrift, Lund

PANDOLFI, M. ( 1970 ): Persistence of fibrinolytic activi-

- ty in fragments of human veins cultured in vitro.  
Thromb. Diath. Haemorrh. 24, 43 - 47
- PANDOLFI, M.; AHLBERG, A.; TRALDI, A.; NILSSON, I. M. ( 1972 ): Fibrinolytic activity of human synovial membrans in health and haemophilia.  
Scand. J. Haemat. 9, 572 - 576
- PANDOLFI, M. ( 1975 ): Histochemistry of tissue plasminogen activator  
Thromb. Diath. Haemorrh. 34, 661 - 663
- PETERSON, H. I.; PETERSON, A.; ZEDERFELDT, B. ( 1969 ): Fibrinolytic activity in healings wounds.  
Acta Chir. Scand. 135, 649 - 652
- QUERESHI, G. D.; GUZELIAN, P. S.; VENNART, R. M.; EVANS, H. J. ( 1985 ): Stimulation of fibrinogen synthesis in cultured rat hepatocytes by fibrinogen fragment E  
Biochem. Biophys. Acta 844, 3
- REICHERT, R.; HOCHSTRASSER, K.; WERLE, E. ( 1971 ): Der Proteaseninhibitorspiegel im menschlichen Nasensekret unter physiologischen und pathologischen Bedingungen  
Klin. Wochenschrift 49, 1234 - 1236
- RIJKEN, D. C.; WIJNGAARDS, G.; WELBERGEN, J. ( 1980 ): Fibrinolysis in human veins.  
Thromb. Res. 18, 815 - 830
- RIJKEN, D. C.; COLLEN, D. ( 1981 ): Purification and characterisation of the plasminogen activator secreted by human melanoma cells in culture.  
J. Biol. Chem. 256, 7035 - 7041
- RIJKEN, D. C.; VAN HINSBERGH, V. W. M.; SENS, E. H. C.

( 1984 ): Quantitation of tissue - type plasminogen activator in human endothelial cell cultures by use of an enzyme immunoassay.  
Thromb. Res. 33, 145 - 153

RISBERG, B. ( 1975 ): Fibrinolysis in the lung.  
Acta Chir. Scand. 458, 1 - 36

RISBERG, B.; PETERSEN, H. - I.; ZETTERGREN, L ( 1975 ): Fibrinolysis in the lung: An experimental study on the localisation of plasminogen activator in the rat lung.  
Microvasc. Res. 9, 222 - 229

ROBBINS, K. C.; SUMMARIA, L.; BARLON, G. H. ( 1968 ): Activation of plasminogen.  
in: Proteases and biological control, Cold Spring Harbor conferences on cell proliferation; E. Reich, D. B. Rifkin, E. Shaw ( Eds. ); Cold Spring Harbor Laboratory

SAYERS, D. C. J.; TYLER, H. M.; LACK, C. H. ( 1965 ): The histological demonstration of cytokinase and tissue fibrin - stabilizing factor.  
J. Path. Bact. 90, 551

SCHEELE, J. ( Hrsg. ) ( 1984 ): Fibrinklebung  
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg,

SCHWARTZ, M. L.; PIZZO, S. V.; SULLIVAN, J. B.; HILL, R. L.; MC KEE, P. A. ( 1973 ): A comparative study of crosslinked fibrin from the major classes of vertebrates.  
Thromb. Diath. Haemorrh. 29, 313

- SCHWICK, H. G.; HEIMBURGER, N. ( 1969 ): Biochemie der Fibrinolyse.  
in: Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse;  
V. Hiemeyer ( Hrsg. ); F. K. Schattauer, Stuttg./  
New York
- SHAPER, A. G.; MARSH, N. A.; PATEL, I.; KATER, F. ( 1972 ):  
Response of fibrinolytic activity to venous  
occlusion.  
Br. Med. J. 3, 571 - 573
- SMOKOVITIS, A.; KOK, P.; ASTRUP, T. ( 1976 ): Presence of  
fibrin prolongs the retainment of locally in-  
jected tissue plasminogen activator.  
Exp. Mol. Pathol. 24, 48 - 58
- SMOKOVITIS, A.; ASTRUP, T. ( 1977 ): A histochemical study  
of fibrinolytic activity and inhibition of plasmin  
in the lungs of some animal species.  
Haemostasis 6, 318 - 328
- SPERNOL, R.; RISS, P.; BECK, A.; DINGES, H. P. ( 1985 ):  
Studies on the fibrinolytic activity of the human  
female genital tract.  
Arch. Gyn. 236, 3
- STEINBUCH, M.; AUDRAN, R. ( 1974 ): Biology and pathology  
of plasma proteinase inhibitors.  
in: Bayer Symposium V, Proteinase inhibitors;  
H. Fritz, H. Tschesche, L. J. Greene, E. Truscheit  
( Hrsg. ); Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- STOPFORTH, A. ( 1970 ): A study of the coagulation mechanism  
in domestic chicken.  
J. Comp. Pathol. 80, 525

- STURKIE, P. D.; GRIMINGER, P. ( 1976 ): Blood coagulation.  
in: Avian physiology; P. D. Sturkie ( Ed. );  
Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin  
70 - 75
- SUGIYAMA, Y. ( 1965 ): Plasminogen activator in the cyto-  
plasmic granules from different organs of mammals.  
Studies on intracellular localisation, releasing  
and molecular size of two kinds of tissue activator.  
Kobe J. Med. Sci. 11, 151 - 167
- TAGNON, H. J.; PALADE, G. E. ( 1950 ): Activation of pro-  
plasmin by a factor from mammalian tissue.  
J. Clin. Invest. 29, 317 - 324
- TODD, A. S. ( 1959 ): The histological localisation of  
fibrinolysin activator.  
J. Path. Bact. 78, 281 - 283
- TODD, A. S. ( 1964 ): Localisation of fibrinolytic activi-  
ty in tissues.  
Br. Med. Bull. 20, 210 - 212
- TYMPANIDIS, K.; ASTRUP, T. ( 1971 ): Fibrinolytic activity  
of epithelium of rat and man.  
J. Urol. 105, 214 - 219
- TYTGAT, G. N. ( 1971 ): Metabolism and distribution of  
fibrinogen in clinical and experimental conditions.  
Med. Diss., Universität te Leuven
- WALLÉN, P. ( 1981 ): Chemistry of plasminogen and plasmino-  
genactivation.  
in: Progress in chemical fibrinolysis and thrombo-  
lysis, Vol. 3; J. F. Davidson, R. M. Rowan, M. M.

Samama, P. C. Desnoyers ( Eds. ); Raven Press,  
New York; 167 - 181

WALLÉN, P.; RANBY, M. BERGSDORF, M.; KOK, P. ( 1981 ):  
Purification and characterisation of tissue  
plasminogen activator: on the occurrence of two  
different forms and their enzymatic properties.  
in: Progress in fibrinolysis, Vol. V; J. F.  
Davidson; I. M. Nilsson, B. Astedt ( Eds. );  
Churchill Livinstone, Edinburgh

WARREN, B. A. ( 1964 ): Fibrinolytic activity of vascular  
endothelium.  
Brit. Med. Bull. 20, 213

WARTELLE, O. ( 1957 ): Mechanisme de la coagulation chez  
la poule.  
Rev. Hematolog. 12, 351 - 365

WERLE, E.; MARX, R.; TRAUTSCHOLD, I.; REICHENBACH - KLINKE,  
K. E. ( 1967 ): Vergleich der Proteinasen - In-  
hibitoren aus Lunge und Leber vom Rind mit be-  
sonderer Berücksichtigung ihres Einflusses auf  
Fibrinolyse und Blutgerinnung.  
Blut 14, 206 - 211

WERLE, E. ( 1968 ): Zur Biochemie und Physiologie der  
Proteinaseinhibitoren.  
Ärztl. Forsch. 22, 41 - 48

WERLE, E. ( 1969 (a) ): Chemie und Wirkungsweise des Trasylol.  
Langenbecks Arch. Chir. 325, 284 - 288

WERLE, E. ( 1969 (b) ): Zur Biochemie des Trasylol.

in: Neue Aspekte der Trasylol - Therapie III;  
G. L. Haberland, P. Matis ( Hrsg. ); F. K.  
Schattauer, Stuttgart

WIMAN, B.; WALLÉN, P. ( 1977 ): The specific interaction  
between plasminogen and fibrin. A physiological  
role of the lysine binding site in plasminogen.  
Thrombos. Res. 10, 213 - 222

WIMAN, B.; COLLEN, D. ( 1978 ): On the kinetics of the  
relation between human antiplasmin and plasmin.  
Eur. J. Biochem. 84, 573 - 578

WIMAN, B.; BOMAN, L.; COLLEN, D. ( 1978 ): On the kinetics  
of the reaction between human antiplasmin and a  
low - molecular - weight form of plasmin.  
Eur. J. Biochem. 87, 143 - 146

WIMAN, B.; LIJNEN, H. R.; COLLEN, D. ( 1979 ): On the  
specific interaction between the lysine - binding  
sites in plasmin and complementary sites in  $\alpha_2$  -  
antiplasmin and in fibrinogen.  
Biochem. biophys. Acta 579, 142 - 154

WIMAN, B.; LJUNGBERG, B.; CHMIELEWSKA, J.; URDÉN, G.;  
BLOMBÄCK, M.; JOHNSSON, H. ( 1985 ): The role of  
the fibrinolytic system in deep vein thrombosis.  
Lab. Clin. Med. 105, 265 - 269

WITT, I. ( 1975 ): Biochemie der Blutgerinnung und Fibrino-  
lyse.  
Weinheim: Verlag Chemie

WOLTERS, H. E. ( 1975 - 1982 ), Die Vogelarten der Erde.  
Paul Parey, Hamburg und Berlin

YUKIYOSHI, H.; MASUICHI, O.; YASUOS, S.; YASURO, M. ( 1985 ):  
Partial purification and characterisation of the  
tissue plasminogen activator in nasal mucosa and  
nasal polyp.

Biochem. Med. 33, 1 - 9

ZEUMER, H. ( 1985 ): Local intraarterial fibrinolysis in  
occlusion of brain supplying arteries.

Fkt. Biol. Med. 4, 2

All denen, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich an dieser Stelle danken:

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten

Herrn Prof. Dr. J. Kösters für die Überlassung des  
Themas und für die konstruktive Kritik,  
vor allem Herrn Dr. F. Grimm für den unermüdlichen Ein-  
satz bei der Beschaffung von Tiermaterial und für die  
hervorragende Betreuung,  
allen anderen Angehörigen der Klinik für die gute  
Arbeitsatmosphäre,  
sowie Rosana Mattiello für die spanische Übersetzung.

Aus dem Institut für Experimentelle Chirurgie

Herrn Prof. Dr. G. Blümel für die Bereitstellung eines  
Arbeitsplatzes,  
im Besonderen Frau Dr. K. Geißdörfer für ihr beispiel-  
haftes Engagement in fachlichen und technischen Be-  
langen,  
Herrn Dr. Stemberger für die hilfreiche Beratung,  
Herrn J. Paluguay, Frau Kaufer, Frau Zündorf und Frau  
Schühle für die Unterstützung im technischen Bereich.



## LEBENS LAUF

|                        |                                                                                                                                                                                        |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Rüdiger Thomas Korbelt | 8000 München 70<br>Johann - Clanze - Str. 43/281                                                                                                                                       |
| Geburtstag, Geburtsort | 6. 7. 1959, Düsseldorf                                                                                                                                                                 |
| Familienstand          | ledig                                                                                                                                                                                  |
| Schulen                | 1965 - 1969 "Erich Kästner Grund-<br>schule" in Düsseldorf - Benrath<br>1969 - 1978 "Ewald Mataré Gymnasium"<br>math. nat. Gymnasium in Meerbusch                                      |
| Abitur                 | Juni 1978                                                                                                                                                                              |
| Wehrdienst             | Juli 1978 - September 1979 in einem<br>Sanitätsbataillon in Itzehoe                                                                                                                    |
| Studium                | November 1979 - November 1984 Fach<br>Tiermedizin an der Ludwig - Maxi-<br>milians - Universität, München                                                                              |
| Approbation            | November 1984                                                                                                                                                                          |
| Dissertation           | ab Dezember 1984 im Institut für Ge-<br>flügelkrankheiten in Oberschleißheim<br>bei München und im Institut für Ex-<br>perimentelle Chirurgie der Techni-<br>schen Universität München |









